

**Identifikasi, Karakterisasi, dan Aktivitas Biologi Gabah dari
Beras Merah Jawa Timur sebagai Anti-Oksidan Secara In Vitro**

SKRIPSI

**Oleh:
YORAVIKA DWIWIBANGGA
175090207111005**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2021**





**Identifikasi, Karakterisasi, dan Aktivitas Biologi Gabah dari
Beras Merah Jawa Timur sebagai Anti-Oksidan Secara In Vitro**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
dalam Bidang Kimia

Oleh:

YORAVIKA DWIWIBANGGA

175090207111005



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2021**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Identifikasi, Karakterisasi, dan Aktivitas Biologi Gabah dari Beras Merah Jawa Timur sebagai Anti-Oksidan Secara In Vitro

Oleh:

YORAVIKA DWIWIBANGGA

175090207111005

Setelah diseminarkan di depan Majelis Penguji

pada tanggal 09 Juli 2021

dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I,

Pembimbing II,



Anna Safitri, S.Si, M.Sc, Ph.D.
NIP. 19800813 2005022 008



Prof. Dra. Fatchiyah, M.Kes., Ph.D.
NIP. 19631127 1989032 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kimia

Fakultas MIPA Universitas Brawijaya



Yuniar Penco Prananto, S.Si., M.Sc.PhD.

NIP. 19810620 2005011 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Yoravika Dwiwibangga

NIM : 175090207111005

Jurusan : Kimia

Penulisan Skripsi Berjudul :

Identifikasi, Karakterisasi, dan Aktivitas Biologi Gabah dari Beras Merah Jawa Timur sebagai Anti-Oksidan Secara In Vitro

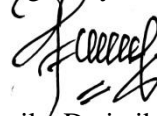
Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub diisi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 14 Juli 2021

Yang menyatakan,



Yoravika Dwiwibangga
NIM. 175090207111005

Identifikasi, Karakterisasi, dan Aktivitas Biologi Gabah dari Beras Merah Jawa Timur sebagai Anti-Oksidan Secara In Vitro

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengkaji senyawa fitokimia, kadar fenolik dan flavonoid total, aktivitas anti-oksidan, dan gugus fungsi pada gabah beras merah Jawa Timur yang diduga berfungsi sebagai anti-oksidan. Tiga varietas gabah beras merah, Menthik Wangi, Aek Sibundong, dan Blambangan diekstraksi menggunakan pelarut metanol. Senyawa fitokimia diuji secara kualitatif dan kadar fenolik serta flavonoid total diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas anti-oksidan ditentukan dengan menggunakan uji *Ferric-Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan gugus fungsional ekstrak gabah diidentifikasi dengan menggunakan FTIR. Hasil uji fitokimia menunjukkan pada gabah beras merah Menthik Wangi, Aek Sibundong, dan Blambangan terkandung senyawa fitokimia flavonoid, triterpenoid, fenolik, tannin, dan glikosida. Selain itu, pada gabah Aek Sibundong juga teridentifikasi senyawa steroid. Kadar fenolik dan flavonoid total tertinggi terdapat pada gabah beras merah Menthik Wangi, yaitu sebesar 2200,65 mg GAE/g sampel dan 1466,48 mg QE/g sampel. Aktivitas anti-oksidan tertinggi pada gabah beras merah Blambangan dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,09 µg/mL. Berdasarkan spektrum FTIR, teridentifikasi beberapa gugus fungsi yang ada di ketiga gabah beras merah, yaitu gugus hidroksil (OH), gugus alkana (C-H alifatik dan C-H *stretching*), gugus aromatik (C=O *stretching*), gugus alkena (C=C *stretching*), ikatan CH₂ dan CH₃, ikatan C-H aromatik dan karbonil-karbonat, gugus alkohol (CHOH *stretching*), dan ikatan C-O. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa masing-masing gabah beras merah memiliki spesifitas kandungan fitokimia dan fungsi sebagai anti-oksidan.

Kata kunci: gabah Menthik Wangi, gabah Aek Sibundong, gabah Blambangan, fitokimia, fenolik, flavonoid, aktivitas anti-oksidan, FTIR

Identification, Characterization, and Biological Activities of Red Rice Bran East Java as In Vitro Anti-Oxidant

ABSTRACT

This study investigates phytochemical compounds, total phenolic and flavonoid compound, anti-oxidant activity, and functional groups in red rice bran East Java which predicted to be an anti-oxidant. Three varieties of red rice bran, namely Menthik Wangi, Aek Sibundong, and Blambangan were extracted using methanol. Phytochemical compounds were determined qualitatively and the total phenolic and flavonoid compound were measured using a UV-Vis spectrophotometer. Anti-oxidant activity was determined using the Ferric-Reducing Antioxidant Power (FRAP) test and the functional groups of the bran extract were identified using FTIR. The results of the phytochemical test showed that red rice bran of Menthik Wangi, Aek Sibundong, and Blambangan contained flavonoid, triterpenoid, phenolic, tannin, and glycoside compounds. Moreover, red rice bran of Aek Sibundong also contains steroid compound. The highest total phenolic and flavonoid content were found in Menthik Wangi which was 2200,65 mg GAE/g sample and 1466,48 mg QE/g sample. The highest anti-oxidant activity was found in Blambangan red rice bran with an IC_{50} value of 1,09 μ g/mL. Based on the FTIR spectrum, functional groups were identified in red rice bran, namely the hydroxyl group (OH), alkane group (CH aliphatic and CH stretching), aromatic group (C=O stretching), alkene group (C=C stretching), CH_2 and CH_3 bonds, aromatic and carbonyl-carbonate CH bonds, alcohol groups (CHOH stretching), and C-O bonds. The conclusion of this study showed that each red rice bran has specific phytochemical content and functions as an anti-oxidant.

Keywords: Menthik Wangi bran, Aek Sibundong bran, Blambangan bran, phytochemicals, phenolic, flavonoid, anti-oxidant activity, FTIR

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan kekuatan dalam melaksanakan penelitian serta penulisan skripsi dengan judul **“Identifikasi, Karakterisasi, dan Aktivitas Biologi Gabah dari Beras Merah Jawa Timur sebagai Anti-Oksidan Secara In Vitro”** sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik karena adanya bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Anna Safitri, S.Si., M.Si., Ph.D dan Prof. Dra. Fatchiyah, M.Kes., Ph.D. selaku dosen pembimbing I dan II atas segala bimbingan dan saran yang diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
2. Dr. Ika Oktavia Wulandari, S.Si., M.Si. selaku dosen penasehat akademikyng telah memberikan bimbingan selama kuliah
3. Dr. Yuniar Ponco Prananto, S.Si., M.Sc. selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Brawijaya yang telah memberikan fasilitas kepada penulis untuk melaksanakan penelitian di seluruh laboratorium kimia.
4. Dosen penguji seminar proposal, kemajuan, dan komprehensif atas saran yang diberikan kepada penulis.
5. Kedua orang tua, saudara, keluarga besar, teman, dan sahabat penulis atas doa, motivasi, nasihat, dan kasih sayang yang diberikan hingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Semua staf dan karyawan Jurusan Kimia, terutama Pak Maryono selaku PLP Biokimia yang telah membantu menyiapkan alat yang diperlukan selama penelitian, Pak Hadi selaku PLP Instrumentasi yang telah membantu menyiapkan instrumen FTIR, Ibu Erna selaku bagian administrasi jurusan yang telah membantu dalam segala urusan administratif dalam pengajuan skripsi ini.

7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu hingga terselesaikannya penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati penulis mengharap kritik dan saran untuk perbaikan dan penyempurnaannya sehingga dapat bermanfaat bagi pembaca.

Malang, Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Beras Merah (<i>Oryza sativa L.</i>)	4
2.2 Senyawa Flavonoid dan Fenolik pada Gabah Beras Berpigmen	5
2.3 Uji Fitokimia pada Gabah Beras Berpigmen	7
2.4 Identifikasi FTIR	8
2.5 Anti-Oksidan pada Gabah Beras Berpigmen	9
BAB III METODE PENELITIAN	11
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Alat Penelitian	11
3.3 Bahan Penelitian	11
3.4 Tahapan Penelitian	11
3.5 Prosedur Penelitian	12
3.5.1 Pemisahan Gabah dari Biji Beras Merah	12
3.5.2 Pembuatan Ekstrak Gabah Beras Merah	12
3.5.3 Uji Fitokimia Ekstrak Gabah Beras Merah	12
3.5.4 Identifikasi Ekstrak Gabah Beras Merah Menggunakan FTIR (<i>Fourier Transform Infra Red</i>)	14
3.5.5 Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Gabah Beras Merah	14

3.5.6	Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Gabah Beras Merah	14
3.5.7	Uji Aktivitas Anti-Oksidan dengan Metode FRAP	15
3.6	Analisa Data	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		17
4.1	Kandungan Senyawa Fitokimia pada Gabah Beras Merah	17
4.1.1	Hasil Uji Fitokimia	17
4.1.2	Pembahasan Uji Fitokimia	18
4.2	Identifikasi Ekstrak Gabah Beras Merah Menggunakan FTIR (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)	22
4.3	Aktivitas Anti-Oksidan pada Gabah Beras Merah	25
4.3.1	Kadar Fenolik Total	25
4.3.2	Kadar Flavonoid Total	26
4.3.3	Aktivitas Anti-Oksidan Gabah Beras Merah	28
BAB V PENUTUP		32
5.1	Kesimpulan	32
5.2	Saran	32
DAFTAR PUSTAKA		33
LAMPIRAN		41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1:	Struktur Dasar dari (a) Flavonoid dan (b) Fenolik	6
Gambar 2.2:	Jenis Flavonoid Berdasarkan Perbedaan Struktur	6
Gambar 4.1:	Reaksi Antara Flavonoid dan NaOH	18
Gambar 4.2:	Reaksi Antara Triterpenoid/Steroid dengan Reagen Liebermann-Burchard	19
Gambar 4.3:	Reaksi Antara Senyawa Fenolik dengan FeCl_3	20
Gambar 4.4:	Reaksi Antara Senyawa Tannin dengan FeCl_3	20
Gambar 4.5:	Reaksi Antara Senyawa Alkaloid dan Reagen Wagner	21
Gambar 4.6:	Reaksi Antara Senyawa Glikosida dan Reagen Keller-Killani	21
Gambar 4.7:	Reaksi Senyawa Saponin dengan Air	22
Gambar 4.8:	Spektrum FTIR Gabah Beras Merah	22
Gambar 4.9:	Reaksi Senyawa Fenolik dengan Reagen Folin-Ciocalteu	25
Gambar 4.10:	Reaksi Senyawa Flavonoid dengan AlCl_3	27
Gambar 4.11:	Aktivitas Anti-Oksidan dari (1a) Menthik Wangi dan Aek Sibundong (1b) Blambangan dan Asam Askorbat	28

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1: Hasil Uji Fitokimia	17
Tabel 4.2: Interpretasi Spektrum FTIR Gabah Beras Merah	23
Tabel 4.3: Kadar Fenolik Total Gabah Beras Merah	25
Tabel 4.4: Kadar Flavonoid Total Gabah Beras Merah	26
Tabel 4.5: Kategori Anti-Oksidan	28
Tabel 4.6: Aktivitas Anti-Oksidan dari Gabah Beras Merah dalam Menghambat Radikal Bebas FRAP	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Skema Kerja Penelitian Secara Umum	41
Lampiran B. Diagram Alir	42
Lampiran C. Perhitungan Percobaan	48
Lampiran D. Perhitungan Hasil	56
Lampiran E. Foto Penelitian	77



DAFTAR SINGKATAN

Singkatan

FTIR	<i>Fourier Transform Infrared</i>
IC ₅₀	<i>The Half Maximal Inhibition Concentration</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
QE	<i>Quercetin Equivalent</i>
GAE	<i>Gallic Acid Equivalent</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
TPC	<i>Total Phenolic Content</i>
TFC	<i>Total Flavonoid Content</i>
pH	<i>Power of Hydrogen</i>

Simbol

μL	Mikroliter
μg	Mikrogram
μm	Mikrometer
μg/mL	Mikrogram/mililiter
mg/mL	Miligram/mililiter
nm	Nanometer
mL	Mililiter
mdpl	Meter di atas permukaan laut
°C	Derajat celcius
rpm	<i>Revolutions Per Minute</i>
M	Molaritas
N	Normalitas
GAE/g	<i>Gallic Acid Equivalent/gram</i>
QE/g	<i>Quercetin Equivalent/gram</i>
cm ⁻¹	<i>centimeter⁻¹</i>



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi (*Oryza* spp.) merupakan anggota famili Poaceae yang paling banyak dibudidayakan. Lebih dari 40.000 varietas padi (*Oryza* spp.) di seluruh dunia yang terbagi dalam dua jenis, yaitu *Oryza sativa* (beras Asia) dan *Oryza glaberrima* (beras Afrika) [1]. Jumlah produksi dan konsumsi beras di dunia meningkat hampir enam kali lipat. Pada tahun 1960-an produksi beras mencapai 7,5 juta ton per tahun dan meningkat menjadi 44,2 juta ton selama 2015-2016 terutama di Asia [1]. Di Indonesia, jumlah produksi dan konsumsi beras untuk kebutuhan pangan penduduk pada tahun 2020 diperkirakan mencapai 31,63 juta ton yang mengalami peningkatan sebesar 314,10 ribu ton atau 1% dibandingkan tahun 2019 dengan jumlah produksi 31,31 juta ton [2]. Pada umumnya, beras putih mendominasi pasar beras namun belakangan ini masyarakat juga cenderung tertarik pada beras berwarna, yaitu salah satunya beras merah. Beras merah dipercaya mengandung berbagai bioaktif yang bermanfaat positif bagi kesehatan [3]. Beras merah berpotensi sebagai bahan pangan fungsional karena tingginya kandungan polifenol dan antosianin [4]. Kandungan fitokimia utama pada beras merah meliputi fenolik, flavonoid, proantosianidin, antosianin yang memiliki fungsi biologis untuk mereduksi radikal bebas, mencegah peroksidasi lipid, dan stres oksidatif [5,6,7]. Berdasarkan penelitian Thitipramote *et al* (2016), diketahui beras merah *Brown Red Jasmine* memiliki senyawa fenolik dan aktivitas anti-oksidan tertinggi dibandingkan dengan beras hitam *Kam Leum Pua* dan beras putih *Japanese Brown Rice* [8].

Gabah merupakan limbah hasil produksi beras yang belum dimanfaatkan secara maksimal sebagai salah satu bahan pangan fungsional. Sampai saat ini pada umumnya pemanfaatannya hanya terbatas sebagai bahan pangan ternak. Gabah berpotensi untuk dieksplorasi kandungannya. Gabah beras merah mengandung bioaktif flavonoid, fenolik, antosianin, proantosianidin, tanin, alkaloid, dan minyak atsiri. Bioaktif flavonoid yang terdapat pada gabah beras merah meliputi catechin, luteolin, quercetin, apigenin, dan myrecitin. Senyawa flavonoid dan fenolik yang ada di dalam gabah beras berpotensi diselidiki memiliki aktivitas anti-oksidan

yang tinggi [9]. Gabah berpotensi menjadi sumber anti-oksidan alami yang dapat digunakan sebagai penangkal radikal bebas. Anti-oksidan merupakan substansi yang dapat menetralkan radikal bebas untuk mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas sehingga berpotensi mencegah penyakit-penyakit degeneratif, seperti penyakit karsinogenesis, kardiovaskuler, dan penyakit lainnya. Berdasarkan penelitian Moko *et al* (2014), gabah beras merah memiliki aktivitas anti-oksidan lebih tinggi (88,29%) jika dibandingkan dengan gabah beras putih (73,81%) [5]. Pada penelitian Agustin *et al.* (in press), diketahui aktivitas anti-oksidan dari beras merah Aek Sibundong, Inpari 24, Cempo Merah, dan Blambangan berturut-turut 6,65; 12,97; 21,78; 34,00 µg/mL [10].

Di Indonesia, beragam varietas beras merah banyak tersebar di Jawa, Bali, Sumatera, Sulawesi, dan NTT. Pada penelitian Widarta dkk (2014), telah dilakukan karakterisasi fisikokimia dan aktivitas anti-oksidan pada gabah beras merah Cendana dari Bali [11]. Akan tetapi, eksplorasi kandungan bioaktif dan profil biokimia, terkhusus pada varietas gabah beras merah di Jawa Timur masih sangat terbatas. Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan eksplorasi kandungan beberapa varietas gabah beras merah dari Jawa Timur, yaitu gabah Mentik Wangi, Aek Sibundong, dan Blambangan melalui uji fitokimia dan identifikasi gugus fungsional pada ekstrak gabah beras merah secara kualitatif menggunakan analisis FTIR. Berikutnya, dilakukan pula uji aktivitas anti-oksidan gabah beras merah secara *in vitro* dengan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Metode FRAP merupakan metode penentuan aktivitas anti-oksidan secara spektrofotometri berdasarkan kemampuan anti-oksidan dalam mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} [12]. Metode ini dipilih karena sederhana, reagen yang cukup ekonomis, dan analisis yang cukup cepat [13].

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana kandungan senyawa fitokimia yang ada pada ekstrak gabah beras merah Jawa Timur?
2. Bagaimana identifikasi senyawa yang ada pada ekstrak gabah beras merah Jawa Timur menggunakan FTIR?

3. Bagaimana aktivitas anti-oksidan dari ekstrak gabah beras merah Jawa Timur secara in vitro?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Jenis gabah beras merah yang digunakan adalah gabah Menthik Wangi dari Ngawi, gabah Blambangan dari Banyuwangi, dan gabah Aek Sibundong dari Malang Selatan.
2. Gabah beras merah masing-masing dimaserasi menggunakan pelarut metanol
3. Identifikasi gugus fungsional senyawa menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*.
4. Uji anti-oksidan pada gabah beras merah menggunakan metode FRAP

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia yang ada pada ekstrak gabah beras merah Jawa Timur
2. Untuk mengetahui identifikasi senyawa yang ada pada ekstrak gabah beras merah Jawa Timur menggunakan FTIR
3. Untuk mengetahui aktivitas anti-oksidan yang ada pada ekstrak gabah beras merah Jawa Timur

1.5 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan mengenai kandungan gabah beras merah yang berpotensi sebagai anti-oksidan alami yang dapat dibuktikan dengan hasil uji aktivitas anti-oksidan secara in vitro.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Beras Merah (*Oryza sativa* L.)

Padi (*Oryza* spp.) merupakan anggota famili Poaceae yang terdiri dari lebih dari 40.000 varietas di seluruh dunia dan terbagi dalam dua jenis yang dibudidayakan secara luas, yaitu *Oryza sativa* (beras Asia) dan *Oryza glaberrima* (beras Afrika) [1]. Berdasarkan warna perikarpnya, kulit biji, dan alueron, padi terdiri dari beberapa jenis kultivar antara lain padi beras putih, beras merah, beras hitam, dan beras coklat berdasarkan akumulasi pigmen proantosianidin dan antosianin [14]. Berdasarkan subspeciesnya, padi dibagi menjadi subspecies *Japonica*, *Javanica*, dan *Indica*. Padi yang memiliki bentuk bulat tergolong pada subspecies *Japonica* dan *Javanica* sedangkan padi yang memiliki bentuk panjang dan langsing tergolong pada subspecies *Indica* [15]. Padi *Japonica* banyak dibudidayakan di negara-negara subtropis, seperti Australia, Cina, Taiwan, Korea, Eropa, Jepang, Rusia, Turki dan Amerika Serikat, padi *Indica* banyak ditanam negara tropis, khususnya Asia, dan padi *Javanica* dapat ditemukan di Jawa, Bali, dan Lombok [1]. Beras merupakan tanaman pangan utama pada hampir seluruh masyarakat di benua Asia, khususnya di Indonesia. Kebutuhan akan beras untuk memenuhi kebutuhan pangan penduduk selalu mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Menurut Badan Pusat Statistik, jumlah produksi beras pada tahun 2020 mencapai 31,63 juta ton yang mengalami kenaikan sebanyak 314,10 ribu ton atau 1,00% dibandingkan tahun 2019 dengan jumlah produksi sebesar 31,31 juta ton [2].

Beras putih masih mendominasi pasar beras. Namun, beberapa masyarakat juga lebih tertarik pada beras berwarna salah satunya beras merah. Beras merah kaya akan nutrisi, seperti seng, kalsium, magnesium, protein, dan serat dibandingkan dengan beras putih sehingga diduga bermanfaat untuk kesehatan dan pencegahan penyakit metabolik [16]. Mineral selenium dari beras merah dapat meningkatkan sel-sel pembunuh sel kanker secara alami, memobilisasi sel-sel untuk memerangi sel-sel kanker, dan dapat berperan sebagai anti-oksidan [17]. Kandungan fitokimia utama

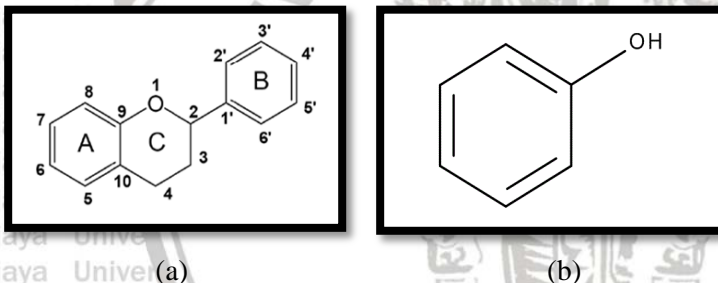
beras merah meliputi fenolik, flavonoid, proantosianidin, antosianin yang memiliki fungsi biologis untuk mereduksi radikal bebas, mencegah peroksidasi lipid, dan stres oksidatif [5,6,7,].

Gabah adalah salah satu limbah hasil produksi beras yang tidak dapat diolah sebagai bahan pangan langsung untuk manusia. Di sisi yang lain, gabah juga kaya kandungan yang dapat digali potensialnya dan dieksplorasi untuk dimanfaatkan lebih optimal. Gabah memiliki kandungan vitamin, mineral, asam lemak esensial, serat, dan sterol lainnya yang sangat baik [9]; Hegde et al (2013) memanfaatkan beberapa terapeutik dari gabah beras berpigmen dan mengamati pengaruhnya dalam pengobatan berbagai penyakit, seperti diare, muntah, demam, perdarahan, nyeri dada, luka dan luka bakar [18]. Oryzanol pada gabah dapat menghambat peroksidasi lipid yang disebabkan oleh sinar UV sehingga dapat digunakan dalam kosmetik sebagai agen tabir surya serta obat untuk keriput dan hiperpigmentasi. Kehadiran asam ferulik dan esternya dalam gamma-oryzanol telah ditemukan untuk merangsang pertumbuhan rambut dan mengurangi dermatitis atopik. Gabah beras merah mengandung bioaktif flavonoid, fenolik, antosianin, proantosianidin, tanin, alkaloid, dan minyak atsiri. Kandungan flavonoid yang terdapat pada gabah beras merah, seperti quercetin, apigenin, catechin, luteolin, dan myrecitin memiliki aktivitas anti-oksidan [9]. Senyawa flavonoid yang ada di dalam gabah beras berpigmen juga cukup tinggi dan diselediki memiliki aktivitas anti-oksidan yang tinggi [19]. Berdasarkan hasil penelitian Moko *et al* (2014), aktifitas anti-oksidan antara tiga varietas bekatul beras berwarna diperoleh aktifitas tertinggi yaitu bekatul varietas merah 88,29%, diikuti varietas Superwin 73,81%, dan Cigeulis 73,81%. Aktivitas anti-oksidan tertinggi diperoleh dengan ekstraksi menggunakan pelarut polar [5]. Berdasarkan penelitian Bhanger *et al* (2008), gabah beras merupakan sumber anti-oksidan potensial dengan aktivitas anti-oksidan yang baik dan senyawa yang stabil secara termal [20]. Oleh karena itu, gabah beras dapat dianalisis lebih lanjut yang potensial untuk formulasi berbagai macam *nutraceuticals* dan manfaat lainnya.

2.2 Senyawa Flavonoid dan Fenolik pada Gabah Beras Berpigmen

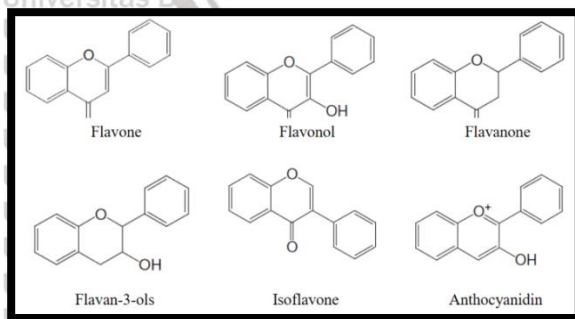
Senyawa flavonoid dan fenolik merupakan kelompok metabolit sekunder tumbuhan yang memiliki yang memiliki cincin aromatik

dan minimal satu gugus hidroksil [21,22]. Senyawa ini menjadi salah satu komponen penyusun tumbuhan. Senyawa flavonoid dan fenolik memiliki peran penting dalam bidang kesehatan, seperti sebagai anti-oksidan, anti-virus, anti-inflamasi, dan anti-bakteri [23]. Sistem kerja biokimia senyawa flavonoid dan fenolik bergantung pada jenis dan posisi substituen yang mempengaruhi metabolisme setiap senyawa [21,22].



Gambar 2.1: Struktur dasar dari (a) flavonoid dan (b) fenolik [24]

Berdasarkan perbedaan jenis strukturnya, senyawa flavonoid diklasifikasikan menjadi flavanol, flavanon, flavan-3-ol, isoflavon, flavon, dan antosianin.



Gambar 2.2: Jenis flavonoid berdasarkan perbedaan struktur [25]

Contoh dari senyawa fenolik meliputi asam protocatechuic, asam syringic, asam ferulic, asam cinnamic, asam p-coumaric sedangkan senyawa flavonoid meliputi quercetin, apigenin, catechin, luteolin, dan myricetin [6]. Senyawa flavonoid dan fenolik memiliki sifat anti-oksidan dikarenakan kemampuannya dalam mengendalikan senyawa oksigen reaktif (ROS) dan menghambat stres oksidatif [26]. Senyawa ini bertindak sebagai anti-oksidan dikarenakan sifat gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogen kepada senyawa

radikal bebas dan menstabilkan senyawa oksigen reaktif (ROS) serta keberadaan gugus keton hidroksil yang dapat bertindak sebagai pengkkelat logam yang menjadi katalis pada peroksidasi lipid [25]. Senyawa quercetin, kaempferol, morin, myricetin, dan rutin memiliki sifat anti-oksidan, aktivitas anti-inflamasi, anti-alergi, anti-virus, serta anti-kanker [27].

Berdasarkan penelitian Kapcum *et al.* (2016) di Thailand yang meneliti beberapa kultivar beras dan beberapa jenis gabah didapatkan hasil bahwa kandungan terbanyak di dalam gabah beras berpigmen adalah senyawa fenolik dan antosianin yang juga berpotensi sebagai anti-oksidan yang baik [28]. Dari penelitian ini didapatkan hasil kadar fenolik total pada gabah beras merah secara signifikan lebih besar dibandingkan dengan gabah beras hitam sesuai dengan hasil yang telah dilaporkan oleh Sompong *et al.* (2011) dan Chen *et al.* (2012) [3,29]. Namun, Yao *et al.* (2010) melaporkan bahwa kadar fenolik total pada beras hitam lebih tinggi dibandingkan beras merah dan ungu yang menunjukkan bahwa budidaya padi lebih mempengaruhi kandungan fenolik [29,30]. Berdasarkan penelitian Goufo *et al.* (2013), asam fenolat paling melimpah yang ditemukan di gabah beras adalah asam ferulic (56-77% dari total asam fenolat), asam p-coumarat (8-24%), asam sinapat (2-12%), asam galat (1-6%), asam protocatechuic (1-4%), asam p-hidroksibenzoat (1-2%), asam vanillic (1%), dan asam syringic (1%) [31]. Berdasarkan penelitian Singh *et al.* (2017), senyawa flavonoid yang terkandung di dalam gabah beras adalah luteolin (14%) > apigenin (6%) > quercetin (3%) > isorhamnetin (1%) > kaempferol (<1%) > myricetin [32].

Berdasarkan penelitian Ghasemzadeh *et al.* (2018), kadar fenolik total pada gabah beras hitam sebesar 1214,7 mg GAE/100g sampel, gabah beras merah sebesar 811,32 mg GAE/100g sampel, dan gabah beras coklat sebesar 447,68 mg GAE/100g sampel serta kadar flavonoid total pada gabah beras hitam sebesar 823,88 mg QE/100g sampel, gabah beras merah sebesar 457,00 mg QE/100 g sampel, dan gabah beras coklat sebesar 240,88 mg QE/100g sampel [6].

2.3 Uji Fitokimia pada Gabah Beras Berpigmen

Fitokimia didefinisikan sebagai senyawa bioaktif non-nutrisi yang dapat ditemukan pada sayur-sayuran, buah-buahan, dan biji-bijian yang bermanfaat untuk meningkatkan kesehatan. Uji fitokimia merupakan metode pendekatan untuk menganalisis ada tidaknya

senyawa metabolit sekunder tertentu pada sampel yang diuji. Uji fitokimia dilakukan untuk menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam suatu bahan alam yang sedang diteliti dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu reagen [33]. Studi sebelumnya melaporkan bahwa gabah beras hitam, merah, dan coklat mengandung hampir semua metabolit sekunder yang ditemukan pada tanaman, yaitu senyawa fenolik, flavonoid, triterpenoid, alkaloid, dan saponin. Terdapat lima jenis senyawa fenolik dan flavonoid yang ditemukan pada tiga varietas gabah beras berwarna. Senyawa fenolik meliputi asam protocatechuic, asam syringic, asam ferulic, asam cinnamic, asam p-coumaric sedangkan senyawa flavonoid meliputi quercetin, apigenin, catechin, luteolin, dan myricetin [6].

Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak gabah beras berpigmen mengandung flavonoid, steroid, fenolat, dan terpenoid [34]. Penelitian lain melaporkan kandungan flavonoid, steroid, fenolat, dan terpenoid ditemukan pada gabah beras hitam “Cempo Ireng”. Hal tersebut menunjukkan bahwa gabah beras berpigmen banyak mengandung senyawa metabolit sekunder dan juga beberapa unsur hara [35].

2.4 Identifikasi FTIR

Salah satu metode spektroskopi yang sangat populer adalah metode spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*). FT-IR merupakan metode spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier sebagai analisis hasil spektrumnya. Pengukuran pada spektrum inframerah dilakukan pada daerah cahaya inframerah tengah (*mid-infrared*), yaitu pada panjang gelombang 2.5-50 μm atau bilangan gelombang 4000-200 cm^{-1} . Saat sinar inframerah dilewatkan melalui sampel senyawa organik maka sejumlah frekuensi diserap dan ada frekuensi yang diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Serapan frekuensi oleh molekul bergantung pada panjang ikatan dan massa atom-atom yang saling berikatan [36]. Molekul yang menyerap energi tersebut mengalami perubahan energi vibrasi dan perubahan tingkat energi rotasi [37]. Prinsip kerja FTIR adalah mengenali gugus fungsi suatu senyawa dari absorbansi inframerah yang dilakukan terhadap senyawa tersebut. Pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa tersebut dapat dibedakan dan dikuantifikasikan [38].

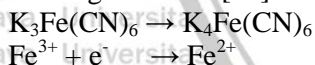
2.5 Anti-Oksidan pada Gabah Beras Berpigmen

Oksidasi adalah proses pelepasan elektron dari suatu senyawa. Senyawa yang dapat menerima atau menangkap elektron disebut sebagai oksidator atau oksidan [39]. Anti-oksidan merupakan substansi yang dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas untuk mencegah penyakit-penyakit degeneratif, seperti penyakit karsinogenesis, kardiovaskuler, dan penyakit lainnya. Anti-oksidan adalah substansi yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang disebut sebagai radikal bebas. Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Elektron yang tidak berpasangan ini cenderung akan menarik elektron dari senyawa lain untuk mencapai kestabilan atom atau molekul dan membentuk radikal baru [40]. Jika radikal bebas ini tidak diinaktifkan maka akan merusak makromolekul pembentuk sel, yaitu protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat [41]. Oleh karena itu, diperlukan suatu anti-oksidan yang bekerja mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa oksidan atau radikal bebas untuk menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai ini [42].

Berdasarkan sumbernya, anti-oksidan dikelompokkan menjadi dua jenis, yaitu anti-oksidan alami dan anti-oksidan sintetis. Anti-oksidan alami adalah anti-oksidan yang tersedia di alam, misalnya vitamin A, vitamin E, dan senyawa fenolik/flavonoid pada tumbuhan [43]. Anti-oksidan alami dikelompokkan juga menjadi dua jenis, yaitu anti-oksidan enzimatis dan non enzimatis. Anti-oksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama terhadap kondisi stres oksidatif yang aktivitasnya bergantung pada ion logam dan bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas baru, contohnya SOD, GPx, glutathione reductase (GR), CAT, dan metaloenzim lainnya [44] sedangkan anti-oksidan non enzimatis merupakan anti-oksidan sekunder, contohnya asam askorbat, lipoat, polifenol, dan karotenoid [45]. Anti-oksidan sintetis adalah anti-oksidan yang disintesis secara kimia karena tidak tersedia secara alami dan pada umumnya ditambahkan ke makanan sebagai pengawet untuk membantu mencegah oksidasi lipid, contohnya butylated hydroxytoluene (BHT) dan butylated hydroxyanisole (BHA) [44].

Beberapa metode dikembangkan untuk menentukan aktivitas anti-oksidan dari suatu sampel, seperti metode DPPH, ABTS,

ORAC, CUPRAC, FRAP, dan penangkapan radikal bebas *nitrat oksida* (NO). Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) merupakan salah satu metode untuk menentukan anti-oksidan di dalam tumbuh-tumbuhan dan memiliki kelebihan, yaitu metode yang sederhana, reagen yang cukup ekonomis, dan analisis yang cukup cepat [13]. Analisis dengan metode FRAP merupakan metoda penentuan kandungan anti-oksidan secara spektrofotometri yang berdasarkan pada kemampuan senyawa anti-oksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Hasil pengujian diinterpretasikan dengan peningkatan absorbsi pada panjang gelombang 700 nm dan kekuatan anti-oksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut [12]. Daya reduksi dalam metode ini menjadi indikator potensi suatu senyawa anti-oksidan. Senyawa yang mempunyai daya reduksi kemungkinan dapat berperan sebagai anti-oksidan karena dapat menstabilkan radikal dengan mendonorkan elektron atau atom hidrogen sehingga senyawa radikal menjadi lebih stabil. Reaksi yang terjadi pada metode FRAP adalah sebagai berikut [46]:



Berdasarkan penelitian sebelumnya, dengan menggunakan metode penangkapan radikal bebas *nitrat oksida* (NO) didapatkan nilai IC_{50} untuk gabah beras hitam, merah, dan coklat sebesar 65,7, 78,2, dan 150,4 $\mu\text{g/mL}$ serta nilai IC_{50} asam askorbat dan asam galat sebagai pembanding sebesar <10 dan 14,8 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan penghambatan radikal bebas yang lebih tinggi. Pada metode DPPH, didapatkan nilai IC_{50} pada ekstrak gabah beras hitam, merah, dan coklat sebesar 39,1, 64,7, dan 87,1 $\mu\text{g/mL}$ serta nilai IC_{50} asam askorbat dan asam galat sebagai pembanding masing-masing adalah 12,4 dan 19,2 $\mu\text{g/mL}$. Dari hasil uji, didapatkan aktivitas DPPH tertinggi dengan nilai IC_{50} terendah terdapat pada gabah beras hitam yang mengandung senyawa fenolik dan flavonoid tertinggi. Kandungan metabolit sekunder, seperti flavonoid, fenolik, dan antosianin yang tinggi di dalam gabah beras hitam dibandingkan dengan gabah beras merah dan coklat diprediksi bertanggung jawab atas aktivitas anti-oksidan yang tinggi [6]. Gabah beras merah dan hitam telah terbukti menunjukkan aktivitas anti-oksidan dan kandungan fenolik yang lebih besar dibandingkan gabah beras nonpigmentasi [47,48].

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2020 sampai April 2021 di laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Institut Biosains Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, plat tetes, labu ukur 10 mL dan 25 mL, pipet tetes, batang pengaduk, gelas arloji, gelas kimia 100 mL, 300 mL, dan 500 mL, erlenmeyer 250 mL dan 500 mL, corong gelas, botol sampel, botol vial 20 mL, kertas saring, tabung reaksi, *rotary evaporator*, botol semprot, alat vortex, neraca analitik, botol aquades, penangas air, aluminium foil, blender, ayakan 60 mesh, dan termometer. Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer *visible* (*Genesys 20 Visible*), spektrofotometer UV-Vis *Genesys 150 Thermo Scientific*, spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (*Shimadzu*) type *IR Prestige 21*.

3.3 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gabah beras merah Menthik Wangi, Aek Sibundong, dan Blambangan, methanol, NaOH 10%, H₂SO₄ pekat, H₂SO₄ 2N, H₂SO₄ 1M, kloroform, FeCl₃ 1%, FeCl₃ 5%, asam asetat glasial, HCl pekat, HCl 2N, aquades, reagen Wagner, reagen fenol Folin-Ciocalteu (1:1), larutan buffer posfat pH 6,6 konsentrasi 0,2M, larutan natrium karbonat jenuh, larutan TCA 10%, larutan potasium ferrisianida 1%, aluminium klorida 2%, ferri klorida 0,1%, asam askorbat, asam galat, dan quercetin.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemisahan gabah dari biji beras merah
2. Pembuatan ekstrak gabah beras merah
3. Uji fitokimia ekstrak gabah beras merah

4. Identifikasi ekstrak gabah beras merah menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)
5. Penentuan kadar fenolik dan flavonoid total pada ekstrak gabah beras merah
6. Uji aktivitas anti-oksidan dengan metode FRAP

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pemisahan Gabah dari Biji Beras Merah

Disiapkan masing-masing biji padi. Biji padi dimasukkan ke dalam *blender* dan dihaluskan sampai gabah terpisah dari biji beras dengan kecepatan medium. Gabah dipisahkan dari beras dengan menggunakan ayakan. Berikutnya, gabah dihaluskan kembali dengan *blender* sampai menjadi bubuk dan disaring.

3.5.2 Pembuatan Ekstrak Gabah Beras Merah

Bubuk gabah beras merah masing-masing ditimbang sebanyak 200 gram. Dilakukan maserasi dengan melarutkan bubuk gabah beras merah dengan 800 mL metanol. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam. Setelah maserasi, ekstrak yang diperoleh disaring sehingga terpisah dari endapannya. Ekstrak cair diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan kecepatan 95 rpm sampai diperoleh ekstrak gabah kental.

3.5.3 Uji Fitokimia Ekstrak Gabah Beras Merah

3.5.3.1 Pembuatan Larutan Sampel untuk Uji Fitokimia

Ekstrak kental gabah beras merah tiap varian diambil sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan di dalam 10 mL pelarut metanol.

3.5.3.2 Uji Flavonoid

Larutan ekstrak gabah beras merah masing-masing sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan NaOH 10% sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Sampel positif yang mengandung flavonoid mengalami perubahan warna menjadi kuning, merah, atau coklat. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 430 nm [49].

3.5.3.3 Uji Triterpenoid

Larutan ekstrak gabah beras merah masing-masing sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,5 mL kloroform, 0,5 mL asam asetat anhidrat, dan 1 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Sampel positif menghasilkan cincin merah

kecoklatan. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 544 nm [50].

3.5.3.4 Uji Steroid

Larutan ekstrak gabah beras merah masing-masing sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 2 tetes HCl pekat dan 1 tetes H_2SO_4 pekat pada dinding tabung reaksi. Sampel positif menghasilkan perubahan warna menjadi hijau. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 276 nm [50].

3.5.3.5 Uji Fenolik

Larutan ekstrak gabah beras merah masing-masing sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 3 tetes FeCl_3 5%. Sampel positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau, hitam kebiruan, atau hitam pekat. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 575 nm [49].

3.5.3.6 Uji Tannin

Larutan ekstrak gabah beras merah masing-masing sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,5 mL FeCl_3 1%. Sampel positif ditandai dengan perubahan warna menjadi biru tua atau hitam kehijauan. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 725 nm [50].

3.5.3.7 Uji Alkaloid

Larutan ekstrak gabah beras merah masing-masing sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 tetes H_2SO_4 2N dan dikocok kuat. Ditambahkan 0,5 mL reagen Wagner. Sampel positif ditandai dengan munculnya endapan coklat. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 470 nm [49].

3.5.3.8 Uji Glikosida

Larutan ekstrak gabah beras merah masing-masing sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 1 mL asam asetat glasial dan 0,5 mL FeCl_3 5%. Kemudian, ditambahkan 2 tetes H_2SO_4 1M melalui dinding tabung sampai terbentuk cincin coklat. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 600 nm [50].

3.5.3.9 Uji Saponin

Larutan ekstrak gabah beras merah masing-masing sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 5 mL air panas dan ditambahkan 2 tetes HCl 2N lalu dikocok kuat. Sampel positif mengandung saponin bila terdapat buih dengan intensitas yang banyak dan konsisten selama 10 menit. Absorbansi

sampel diukur pada panjang gelombang 435 nm [49].

3.5.4 Identifikasi Ekstrak Gabah Beras Merah Menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

Identifikasi gugus fungsi dan senyawa yang terkandung dalam ekstrak gabah beras merah diamati menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). FTIR merupakan salah satu instrumen yang menggunakan prinsip spektroskopi, yakni spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi fourier untuk deteksi serta analisis hasil spectrumnya. Bilangan gelombang yang digunakan dalam rentang ($4500\text{-}500\text{ cm}^{-1}$) [37]. Pada identifikasi FTIR digunakan metode lapis tipis untuk sampel cair. Sedikit cairan sampel yang akan diidentifikasi ditetaskan pada satu bagian window KBr. Kemudian, satu bagian window KBr yang lain dipasang sehingga cairan merata pada permukaan window. Siapkan window KBr pada holder dan instrumen FTIR dinyalakan. Hasil identifikasi senyawa dapat diinterpretasi.

3.5.5 Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Gabah Beras Merah

Kadar fenolik total dari ekstrak gabah beras merah ditentukan menggunakan reagen Folin dan Ciocalteu [28]. Sampel uji sebanyak 0,2 mL dicampur dengan 0,6 mL aquades dan 0,2 mL reagen fenol Folin-Ciocalteu (1:1). Setelah 5 menit, ditambahkan 1 mL larutan natrium karbonat jenuh (8% b/v dalam air) dan volumenya dibuat sampai 3 mL dengan aquades. Campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit dan kemudian absorbansi dari larutan diukur pada panjang gelombang 745 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Kandungan fenolik dihitung sebagai ekuivalen asam galat GAE/g bahan tanaman kering berdasarkan kurva standar asam galat (0–100 mg/mL). Pengukuran dilakukan secara triplo.

3.5.6 Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Gabah Beras Merah

Dalam penentuan kadar flavonoid total, sebanyak 0,6 mL larutan ekstrak dicampur dengan 0,6 mL aluminium klorida 2%. Kemudian, larutan diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 418 nm dengan UV-Vis spektrofotometer. Larutan standar menggunakan quercetin

digunakan untuk membuat kurva kalibrasi standar. Selanjutnya, ditentukan kurva standar quercetin (0-20 mg/mL) sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid total pada ekstrak sampel. Konsentrasi total kandungan flavonoid dalam sampel uji dihitung dari plot kurva standar, dan dinyatakan sebagai mg ekuivalen quercetin (QE)/g bahan tanaman kering. Pengukuran dilakukan secara triplo.

3.5.7 Uji Aktivitas Anti-Oksidan dengan Metode FRAP

Dibuat larutan *stock* ekstrak gabah Menthik Wangi dan Aek Sibundong dengan konsentrasi 1000 µg/mL dan ekstrak gabah Blambangan dengan konsentrasi 100 µg/mL. Kemudian, larutan *stock* ekstrak gabah Menthik Wangi dan Aek Sibundong diencerkan menjadi seri konsentrasi 0, 120, 140, 160, 180, 200 µg/mL serta larutan *stock* ekstrak gabah Blambangan diencerkan menjadi seri konsentrasi 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL. Masing-masing larutan dicampur dengan 0,2 M buffer fosfat pH 6,6 sebanyak 2,5 mL dan 1% potasium ferrisianida sebanyak 2,5 mL. Larutan diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Kemudian, ditambahkan 2,5 mL TCA 10% dan dihomogenkan. Sebanyak 5 mL larutan diambil dan dipindah ke tabung reaksi baru. Larutan ditambah 5 mL aquades dan 1 mL ferri klorida 0,1% dan diukur absorbansi pada $\lambda=700$ nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis [51]. Dilakukan pula pengukuran aktivitas anti-oksidan asam askorbat dengan variasi konsentrasi 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL. Aktivitas anti-oksidan selanjutnya dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ anti-oksidan} = \left[\frac{(\text{absorbansi sampel} - \text{absorbansi kontrol})}{\text{absorbansi sampel}} \right] \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ ditentukan dengan membuat persamaan regresi linear antara konsentrasi sampel dan persentase aktivitas anti-oksidannya yang di plot masing-masing pada sumbu x dan y. Nilai IC₅₀ dihitung dengan cara memasukkan y=50 dalam persamaan regresi linier yang diperoleh dari grafik hubungan konsentrasi ekstrak (µg/mL) terhadap persentase aktivitas anti-oksidan.

3.6 Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan adalah deskriptif kuantitatif dan kualitatif. Kadar flavonoid dan fenolik total serta aktivitas anti-oksidan dianalisis statistik dengan One-way ANOVA, dilanjutkan

dengan uji Tukey dengan taraf signifikansi α 0,05 untuk data homogen. Data yang tidak homogen dianalisis dengan Brown-Forsythe dan diuji lanjut menggunakan Games-Howell [86].



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kandungan Senyawa Fitokimia pada Gabah Beras Merah

4.1.1 Hasil Uji Fitokimia

Senyawa fitokimia merupakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tumbuhan. Tumbuhan menghasilkan beragam senyawa bioaktif dengan kandungan fitokimia yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber anti-oksidan untuk melindungi tubuh manusia dari kerusakan akibat radikal bebas. Beberapa senyawa fitokimia, salah satunya flavonoid, mampu bertindak sebagai antioksidan sehingga dapat menghambat kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas [52,53]. Pada penelitian ini, hasil uji fitokimia disajikan pada tabel sebagai berikut:

Tabel 4.1: Hasil Uji Fitokimia

Sampel	Flavonoid	Triterpenoid	Steroid	Fenolik	Tannin	Alkaloid	Glikosida	Saponin
Menthik Wangi	+++	++++	-	++	++	-	+	-
Aek Sibundong	++	++	+	++	++	-	+	-
Blambangan	++	++	-	+	+	-	+	-

Keterangan : ++++ = absorbansi >3-4 (intensitas warna sangat pekat)

+++ = absorbansi >2-3 (intensitas warna pekat)

++ = absorbansi >1-2 (intensitas warna sedang)

+

= absorbansi >0-1 (intensitas warna rendah)

- = absorbansi 0

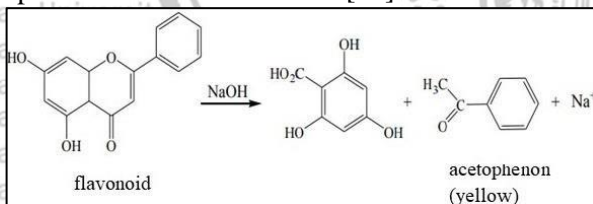
Berdasarkan tabel hasil uji fitokimia pada ekstrak gabah beras merah, didapatkan hasil analisis pada gabah beras merah Mentik Wangi, Aek Sibundong, dan Blambangan terkandung senyawa flavonoid, triterpenoid, fenolik, tanin, dan glikosida. Selain itu, pada gabah Aek Sibundong teridentifikasi pula steroid. Dari hasil pengukuran nilai absorbansi, semakin tinggi absorbansi yang terukur mengindikasikan semakin banyak kadar metabolit sekunder tertentu yang terkandung di dalam ekstrak gabah. Berdasarkan penelitian Rukmana *et al* (2016), ekstrak gabah beras berpigmen mengandung flavonoid, steroid, fenolat, dan terpenoid [34]. Berdasarkan penelitian Moko *et al* (2014), uji fitokimia dari gabah beras merah Minahasa mengandung hampir semua metabolit sekunder, yaitu senyawa fenol, flavonoid, triterpenoid, alkaloid, dan saponin, namun tidak menunjukkan adanya steroid [5]. Jika dibandingkan dengan

hasil uji fitokimia beras merah menggunakan pelarut metanol pada penelitian Batubara *et al* (2016), diketahui lebih sedikit metabolit sekunder yang teridentifikasi, yaitu senyawa saponin, flavonoid, dan triterpenoid [54]. Hasil dari uji fitokimia pada penelitian telah sesuai dengan penelitian Rukmana *et al* (2016) dan Moko *et al* (2014) [34,5]. Namun, pada penelitian ini tidak dihasilkan hasil positif untuk senyawa saponin.

4.1.2 Pembahasan Uji Fitokimia

4.1.2.1 Uji Fitokimia Flavonoid

Pada uji flavonoid, ketiga ekstrak gabah beras merah menunjukkan hasil positif. Pada uji flavonoid dengan menggunakan reagen NaOH, hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna coklat dikarenakan terbentuknya asetofenon [55]. Senyawa kristin sebagai senyawa turunan dari senyawa flavon mengalami penguraian oleh basa NaOH menjadi molekul asetofenon yang berwarna kuning dikarenakan terjadinya pemutusan ikatan pada struktur isoprena setelah penambahan larutan NaOH [56].



Gambar 4.1: Reaksi antara flavonoid dan NaOH [57]

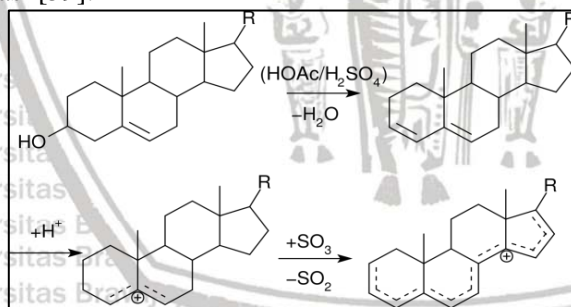
4.1.2.2 Studi Fitokimia Triterpenoid

Pada uji triterpenoid, ketiga ekstrak gabah beras merah menunjukkan hasil positif. Pada uji triterpenoid, hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin coklat setelah sampel direaksikan dengan reagen kloroform, asam asetat anhidrat, dan H₂SO₄. Kloroform berfungsi sebagai pelarut senyawa triterpenoid karena bersifat non polar. Penambahan asam asetat anhidrat dilakukan untuk membentuk turunan asetil dalam kloroform dan penambahan H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung akan mengakibatkan terjadinya reaksi antara anhidrida asetat dengan asam sehingga atom karbon pada anhidrida akan membentuk karbokation. Karbokation yang terbentuk ini akan bereaksi dengan atom oksigen pada gugus -OH yang ada pada senyawa triterpenoid. Reaksi ini merupakan reaksi esterifikasi, yaitu reaksi pembentukan senyawa ester oleh senyawa triterpenoid dengan

anhidrida asetat. Dari percobaan dihasilkan cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut yang mengindikasikan adanya senyawa triterpenoid [58].

4.1.2.3 Studi Fitokimia Steroid

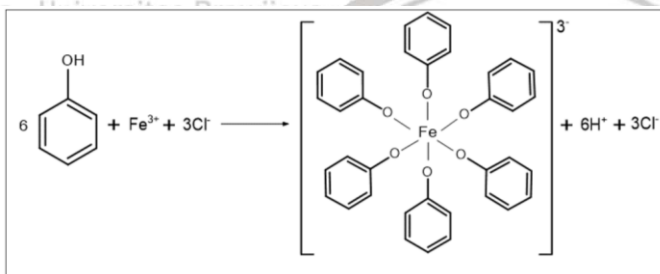
Pada uji steroid, hanya ekstrak gabah Aek Sibundong yang menunjukkan hasil positif. Pada uji steroid, hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau setelah sampel direaksikan dengan reagen HCl dan H_2SO_4 . Senyawa steroid akan mengalami dehidrasi dan pemutusan ikatan dengan penambahan asam sulfat pekat dan membentuk ion yang memberikan sejumlah reaksi warna. Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya reaksi oksidasi pada golongan steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi [59].



Gambar 4.2: Reaksi antara triterpenoid/steroid dengan reagen Liebermann-Burchard [60]

4.1.2.4 Studi Fitokimia Fenolik

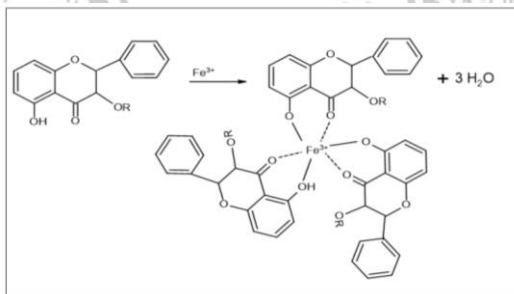
Pada uji fenolik, ketiga ekstrak gabah beras merah menunjukkan hasil positif. Pada uji fenolik dengan menggunakan reagen FeCl_3 , hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau, hitam kebiruan, atau hitam pekat [49]. Pada saat direaksikan, fenol akan membentuk khelat dengan ion logam Fe^{3+} . Ion Cl^- yang berasal akan bereaksi dengan H^+ dari gugus hidroksi fenol dan membentuk HCl. Warna hitam atau hijau yang teridentifikasi merupakan kompleks logam Fe dan senyawa fenol [61].



Gambar 4.3: Reaksi antara senyawa fenolik dengan FeCl_3 [61]

4.1.2.5 Studi Fitokimia Tannin

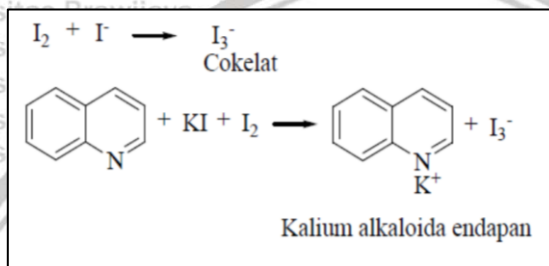
Pada uji tannin, ketiga ekstrak gabah beras merah menunjukkan hasil positif. Pada uji fenolik dengan menggunakan reagen FeCl_3 yang berfungsi menghidrolisis golongan tannin sehingga tannin akan terkondensasi dan terbentuklah warna hijau. Pada saat direaksikan, perubahan warna yang terjadi disebabkan karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion Fe^{3+} dan tannin [62].



Gambar 4.4: Reaksi antara senyawa tannin dengan FeCl_3 [62]

4.1.2.6 Studi Fitokimia Alkaloid

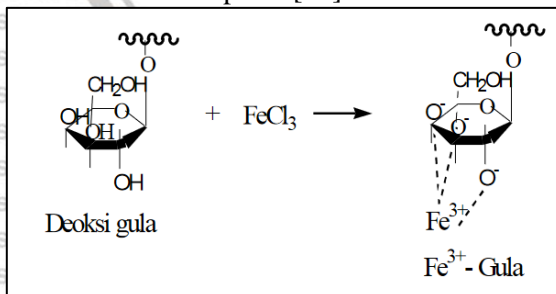
Pada uji alkaloid, ketiga ekstrak gabah beras merah menunjukkan hasil negatif. Pada uji alkaloid, hasil positif ditandai dengan munculnya endapan coklat setelah sampel direaksikan dengan H_2SO_4 dan reagen Wagner. Pada uji alkaloid, ekstrak ditambahkan H_2SO_4 untuk menetralkan alkalin dari alkaloid. Saat ditambahkan reagen Wagner, I_2 akan bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodida dan membentuk I_3^- sedangkan ion K^+ akan berikatan dengan nitrogen pada alkaloid yang memiliki elektron tidak berpasangan sehingga membentuk ikatan kovalen koordinasi menghasilkan senyawa kompleks [63].



Gambar 4.5: Reaksi antara senyawa alkaloid dan reagen Wagner [63]

4.1.2.7 Studi Fitokimia Glikosida

Pada uji glikosida, ketiga ekstrak gabah beras merah menunjukkan hasil positif. Pada uji glikosida dengan menggunakan reagen asetat glasial, FeCl_3 , dan H_2SO_4 , hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin coklat. Perubahan warna ini menunjukkan adanya deoksi gula pada glikosida. Terbentuk cincin coklat dan perubahan warna menjadi merah dikarenakan adanya pembentukan kompleks. Atom oksigen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada gugus glikosida akan mendonorkan elektronnya untuk berikatan dengan Fe^{3+} membentuk kompleks [62].

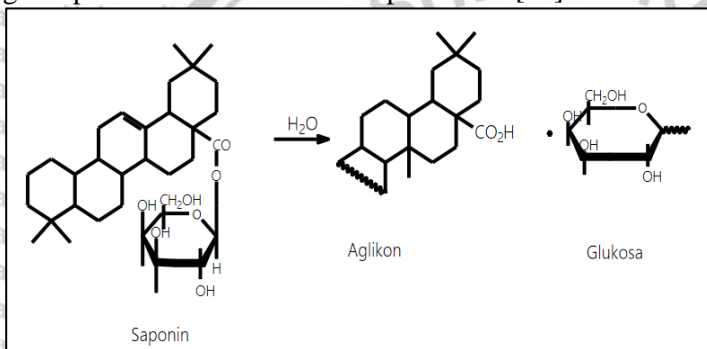


Gambar 4.6: Reaksi antara senyawa glikosida dan reagen Keller–Killani [63]

4.1.2.8 Studi Fitokimia Saponin

Pada uji saponin, ketiga ekstrak gabah beras merah menunjukkan hasil negatif. Pada uji saponin, hasil positif ditandai dengan munculnya buih setelah direaksikan dengan HCl dan dilakukan pemanasan. Penambahan larutan HCl 2N dilakukan untuk menambah kepolaran agar gugus hidrofil berikatan dengan baik dan buih terbentuk dengan stabil. Saponin mengandung gugus polar dan

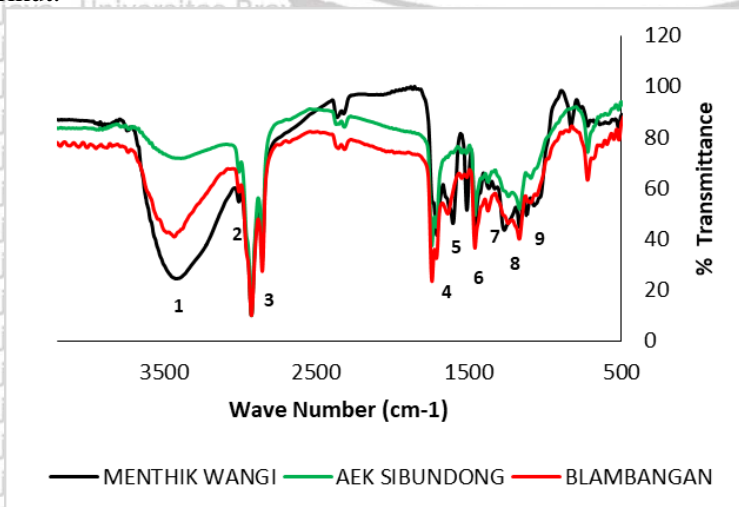
non-polar yang bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel. Struktur misel terjadi karena gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus non polar menghadap ke dalam dan teramati seperti buih [64].



Gambar 4.7: Reaksi senyawa saponin dengan air [62]

4.2 Identifikasi Ekstrak Gabah Beras Merah Menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

Pada penelitian ini, dilakukan analisis FTIR untuk mengidentifikasi gugus fungsi dari ketiga varian gabah beras merah. Hasil dari identifikasi menggunakan FTIR disajikan pada gambar berikut:



Gambar 4.8: Spektrum FTIR Gabah Beras Merah

Tabel 4.2: Interpretasi Spektrum FTIR Gabah Beras Merah

No.	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Interpretasi Gugus Fungsi
1.	3500-3400	O-H <i>stretching</i>
2.	3010-3000	C-H alifatik
3.	3000-2850	C-H sp ³ <i>stretching</i>
4.	1750-1710	C=O <i>stretching</i> dari grup aromatik
5.	1650- 1600	C=C <i>stretching</i> dari alkanan dan aromatik
6.	1470-1440	CH ₂ dan CH ₃ (vibrasi <i>rocking</i> dari ikatan C-H)
7.	1390-1370	CH aromatic dan karbonil-karbonat
8.	1270-1230	CHOH <i>stretching</i> dari grup alcohol
9.	1200-1050	Grup C-O

Spektrum FTIR menunjukkan hasil yang identik untuk ketiga gabah beras merah. Berdasarkan spektra FTIR, serapan vibrasi yang melebar dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 3432,89-3417,2 cm⁻¹ mengindikasikan vibrasi gugus hidroksil. Serapan di daerah bilangan gelombang sekitar 3009,31-2855,28 cm⁻¹ mengindikasikan adanya gugus fungsi alkana, yaitu ikatan C-H alifatik dan C-H *stretching*. Vibrasi di daerah 1744,26-1711,45 cm⁻¹ mengindikasikan C=O *stretching* pada gugus aromatik dan gugus ester. Vibrasi ikatan C=C *stretching* pada daerah sekitar 1638,72-1514,64 cm⁻¹ mengindikasikan adanya gugus alkena dan aromatik. Serapan vibrasi pada daerah bilangan gelombang 1460,44-1459,01 cm⁻¹ mengindikasikan adanya ikatan CH₂ dan CH₃. Vibrasi ikatan di daerah 1376,29-1370,59 cm⁻¹ mengindikasikan adanya CH aromatik dan karbonil-karbonat. Serapan di daerah 1267,90-1242,43 cm⁻¹ mengindikasikan ikatan CHOH *stretching* dari grup alkohol. Serapan vibrasi pada daerah bilangan gelombang 1168,07-1073,94 cm⁻¹ mengindikasikan ikatan C-O dan serapan di daerah bilangan gelombang 1000-400 cm⁻¹ merupakan bagian dari *fingerprinth region*.

Penelitian Astuti dkk. (2014) menjelaskan bahwa vibrasi

ikatan C-H alifatik dan C-H *stretching* pada daerah 3000-2856 cm^{-1} diperkuat dengan adanya vibrasi C-H tekuk pada ikatan CH_2 dan CH_3 di daerah 1460-1377 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus dimetil sebagai ciri khas senyawa triterpenoid [65]. Berdasarkan penelitian Sari dkk. (2015), adanya serapan yang pada bilangan gelombang 1744 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus ester ($\text{C}=\text{O}$) mengindikasikan senyawa tanin terhidrolisis yang terbentuk dari ikatan ester antara gugus hidroksil dan gugus karboksil dari asam fenolat. Adanya gugus -OH, C-H alifatik, $\text{C}=\text{O}$ ester, $\text{C}=\text{C}$ aromatik, C-O-H, dan C-O-C eter mengindikasikan golongan tanin [66].

Adanya pita serapan pada daerah 1169-1055 cm^{-1} mengindikasikan gugus C-O dan serapan pada daerah 3400 cm^{-1} mengindikasikan gugus -OH yang menunjukkan adanya senyawa fenolik, glikosida, dan flavonoid. Gafur dkk. (2015) menyatakan bahwa adanya gugus -OH, C-H alifatik, $\text{C}=\text{C}$ aromatik, dan C-O mengindikasikan senyawa fenolik, glikosida, dan flavonoid [67].

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Daffala *et al* (2010), diketahui bahwa berdasarkan analisis FTIR pada gabah beras teridentifikasi adanya gugus -OH pada bilangan gelombang 3404,31 cm^{-1} , gugus C-H *stretching* alkana pada bilangan gelombang 2925,81 cm^{-1} , dan gugus $\text{C}=\text{O}$ *stretching* dari gugus aromatik pada bilangan gelombang 1737,74-1641,31 cm^{-1} . Gugus $\text{C}=\text{C}$ *stretching* dari alkena dan aromatik teridentifikasi pada bilangan gelombang 1652,88-1546,8 cm^{-1} , gugus CH_2 dan CH_3 pada bilangan gelombang 1461,94 cm^{-1} , dan gugus CH aromatik dan karbonil-karbonat pada bilangan gelombang 1379,01 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1238,21 cm^{-1} teridentifikasi gugus CHOH *stretching* dari grup alkohol, gugus CO dari lakton pada bilangan gelombang 1300-1153,35 cm^{-1} , gugus Si-O-Si pada bilangan gelombang 1090-1080 cm^{-1} , ikatan C-C pada bilangan gelombang 935,41 cm^{-1} , ikatan Si-H pada bilangan gelombang 800-469 cm^{-1} , dan $-\text{OCH}_3$ pada bilangan gelombang 580-34 cm^{-1} [64]. Hasil identifikasi FTIR telah sesuai dengan penelitian Daffalla *et al* (2010). Terdapat serapan vibrasi pada bilangan gelombang tertentu yang mengindikasikan gugus fungsi dari senyawa yang terkandung di dalam gabah beras merah yang diekstraksi dengan pelarut



metanol pada daerah bilangan gelombang 3500-400 cm^{-1} .

4.3 Aktivitas Anti-Oksidan pada Gabah Beras Merah

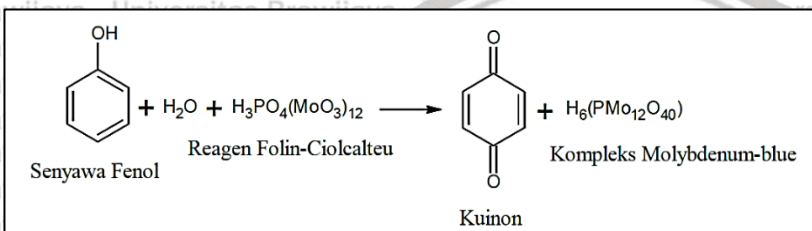
4.3.1 Kadar Fenolik Total

Kadar fenolik total dari ekstrak metanol gabah beras merah menggunakan reagen Folin-Ciocalteu yang diperoleh adalah sebagai berikut:

Tabel 4.3: Kadar Fenolik Total Gabah Beras Merah

Jenis Gabah	TPC (mg GAE/g)
Menthik wangi	$2200,97 \pm 0,056$
Aek sibundong	$1578 \pm 0,11$
Blambangan	$949,48 \pm 0,056$

Dari hasil percobaan, diketahui bahwa kadar fenolik tertinggi terdapat pada gabah beras merah Mentik Wangi, yaitu sebesar 2200,97 mg GAE/g sampel. Berdasarkan uji ANOVA, diketahui nilai signifikansi (p) adalah 1 ($p > 0.05$) sehingga diasumsikan bahwa tidak ada perbedaan rata-rata kadar fenolik total dari ketiga gabah yang berbeda. Hasil yang didapatkan ini sesuai dengan hasil uji fitokimia bahwa nilai absorbansi terbesar uji fenolik ada pada gabah Mentik Wangi yang mengindikasikan tingginya konsentrasi senyawa fenolik gabah Mentik Wangi jika dibandingkan dengan gabah Aek Sibundong dan Blambangan. Selain itu, didukung pula dengan hasil spektrum FTIR yang menunjukkan adanya serapan vibrasi gugus -OH, C-H alifatik, C=C aromatik, dan C-O mengindikasikan senyawa fenolik. Prinsip penentuan kadar fenolik total adalah gugus hidroksil pada senyawa fenolik akan bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks molybdenum-tungsten berwarna biru yang terukur pada daerah panjang gelombang 745 nm. Penggunaan natrium karbonat untuk mengkondisikan pH karena senyawa fenolik hanya dapat bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi senyawa fenolat [68].



Gambar 4.9: Reaksi Senyawa Fenolik dengan Reagen Folin-Ciocalteu [68]

Asam galat digunakan sebagai standar karena merupakan turunan dari asam hidroksi benzoat yang tergolong asam fenol sederhana dan bersifat stabil. Asam galat sebagai standar pada pengujian total fenolik akan digunakan untuk membuat kurva kalibrasi [69].

Berdasarkan hasil penelitian Ghasemzadeh *et al.* (2018), pada gabah beras berpigmen kadar kadar fenolik total berkisar antara 269,85-1214,7 mg GAE/100 g sampel. Kadar fenolik total pada gabah beras hitam sebesar 1214,7 mg GAE/100g sampel, gabah beras merah sebesar 811,32 mg GAE/100 g sampel, dan gabah beras coklat sebesar 447,68 mg GAE/100 g [6]. Jika dibandingkan dengan penelitian Ghasemzadeh *et al.* (2018), kadar total fenolik ketiga gabah Menthik Wangi, Aek Sibundong, dan Blambangan lebih tinggi.

4.3.2 Kadar Flavonoid Total

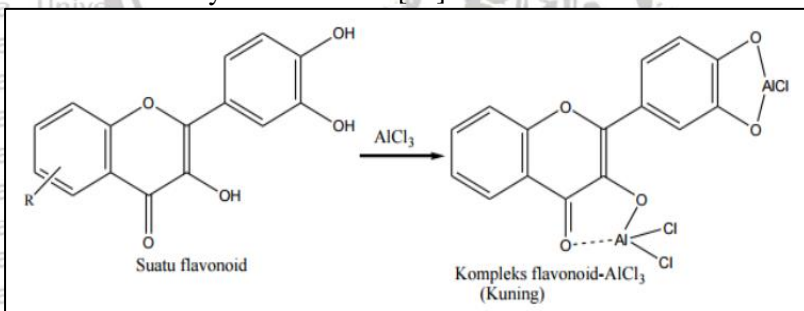
Kadar flavonoid total dari ekstrak metanol gabah beras merah dengan metode kolorimetri assay yang diperoleh adalah sebagai berikut:

Tabel 4.4: Kadar Flavonoid Total Gabah Beras Merah

Jenis Gabah	TFC (mg QE/g)
Menthik wangi	1467,96 ± 0,011
Aek sibundong	1197 ± 0,011
Blambangan	1122,77

Dari hasil percobaan, diketahui bahwa kadar flavonoid tertinggi terdapat pada gabah beras merah Menthik Wangi, yaitu sebesar 1467,96 mg QE/g sampel. Berdasarkan uji ANOVA, diketahui nilai signifikansi (p) adalah 1 (p>0.05) sehingga diasumsikan bahwa tidak ada perbedaan rata-rata kadar flavonoid total dari ketiga gabah yang berbeda. Hasil yang didapatkan ini

sesuai dengan hasil uji fitokimia bahwa nilai absorbansi terbesar uji flavonoid ada pada gabah Menthik Wangi yang mengindikasikan tingginya konsentrasi senyawa flavonoid gabah Menthik Wangi jika dibandingkan dengan gabah Aek Sibundong dan Blambangan. Selain itu, didukung pula dengan hasil spektrum FTIR yang menunjukkan adanya serapan vibrasi gugus -OH, C-H alifatik, C=C aromatik, dan C-O mengindikasikan senyawa flavonoid. Prinsip penentuan kadar flavonoid total dengan reagen AlCl_3 adalah terjadinya reaksi pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-4 yang dari flavon dan flavonol yang ditandai dengan terbentuknya perubahan warna menjadi kuning atau hijau. Aluminium klorida akan membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin A-atau B dari senyawa flavonoid [70].



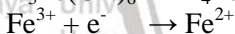
Gambar 4.10: Reaksi Senyawa Flavonoid dengan AlCl_3 [70]

Quercetin digunakan sebagai larutan standar karena merupakan flavonoid golongan flavonol [71]. Quercetin merupakan senyawa penyusun 60-75% dari flavonoid yang dapat bereaksi dengan AlCl_3 . Quercetin sebagai standar pada pengujian total flavonoid akan digunakan untuk membuat kurva kalibrasi [72].

Berdasarkan penelitian Ghasemzadeh *et al.* (2018), pada gabah beras berpigmen kadar flavonoid total berkisar antara 40,15-823,88 mg QE/100 g sampel. Kadar flavonoid total pada gabah beras hitam sebesar 823,88 mg QE/100 g sampel, gabah beras merah sebesar 457,00 mg QE/100 g sampel, dan gabah beras coklat sebesar 240,88 mg QE/100 g sampel) [6]. Jika dibandingkan dengan penelitian Ghasemzadeh *et al.* (2018), kadar total flavonoid ketiga gabah Menthik Wangi, Aek Sibundong, dan Blambangan lebih tinggi.

4.3.3 Aktivitas Anti-Oksidan Gabah Beras Merah

Analisis dengan metode FRAP merupakan metoda penentuan kandungan anti-oksidan secara spektrofotometri yang berdasarkan pada kemampuan senyawa anti-oksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Daya reduksi menjadi indikator potensi suatu senyawa anti-oksidan. Senyawa yang mempunyai daya reduksi kemungkinan dapat berperan sebagai anti-oksidan karena dapat menstabilkan radikal dengan mendonorkan elektron atau atom hidrogen sehingga senyawa radikal menjadi lebih stabil. Kehadiran anti-oksidan dalam ekstrak mengakibatkan reduksi kompleks besi sianida menjadi kompleks sianida besi [73]. Reaksi yang terjadi pada metode FRAP adalah sebagai berikut [46]:

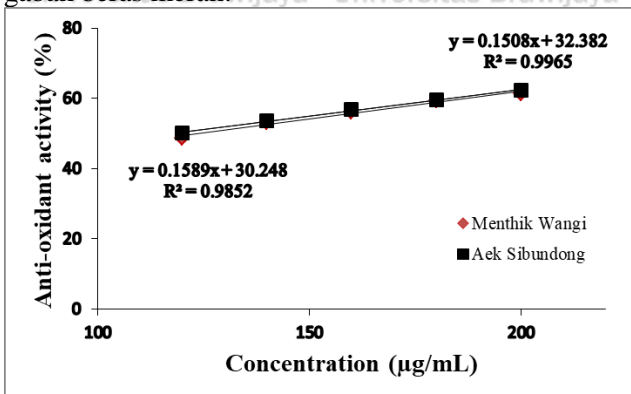


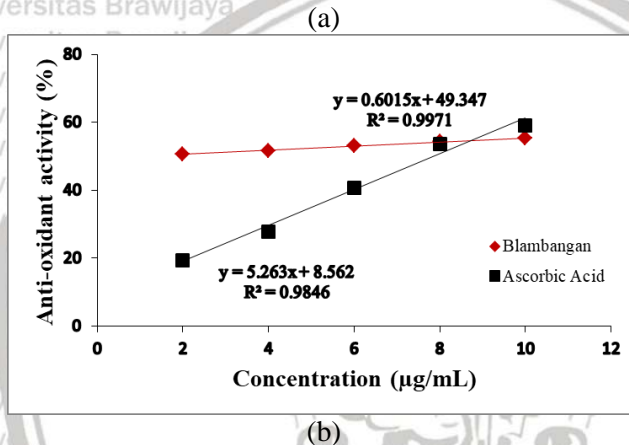
Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas FRAP. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas anti-oksidan. Kategori anti-oksidan berdasarkan nilai IC_{50} diklasifikasikan sebagai berikut [6]:

Tabel 4.5: Kategori Anti-Oksidan [6]

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Kategori
<10	Sangat Kuat
10-50	Kuat
50-100	Sedang
100-250	Lemah
>250	Tidak Aktif

Berikut adalah hasil dari aktivitas anti-oksidan dan nilai IC_{50} ketiga sampel gabah beras merah:





Gambar 4.11: Aktivitas Anti-Oksidan dari (a) Menthik Wangi dan Aek Sibundong (b) Blambangan dan Asam Askorbat

Tabel 4.6: Aktivitas Anti-Oksidan dari Gabah Beras Merah dalam Menghambat Radikal Bebas FRAP

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Menthik Wangi	124,30 ^a
Aek Sibundong	116,83 ^b
Blambangan	1,09 ^c

*notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf $\alpha = 0,05$.

Asam askorbat digunakan sebagai pembanding untuk uji aktivitas penghambatan radikal bebas FRAP. Pada penelitian ini didapatkan nilai IC_{50} untuk asam askorbat sebesar 0,28 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka aktivitas anti-oksidannya juga semakin meningkat. Kemampuan penghambatan radikal bebas semua gabah beras merah lebih rendah dibandingkan dengan asam askorbat. Kemampuan penghambatan tertinggi ada pada gabah beras merah Blambangan, yaitu dengan nilai IC_{50} sebesar 1,09 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan nilai IC_{50} , gabah Blambangan dan asam askorbat tergolong anti-oksidan yang sangat kuat sedangkan gabah Menthik Wangi dan Aek Sibundong tergolong anti-oksidan yang lemah. Berdasarkan uji Games-Howell, diketahui terdapat perbedaan rata-rata pada aktivitas anti-oksidan untuk gabah Menthik Wangi, Aek Sibundong, dan Blambangan.

Pada penelitian Ghasemzadeh *et al* (2018), nilai IC_{50} gabah beras hitam, merah, dan coklat adalah 65,7; 78,2; dan 150,4 $\mu\text{g/mL}$

[6]. Kandungan metabolit sekunder, seperti flavonoid, fenolik, dan antosianin yang tinggi di dalam gabah beras diprediksi bertanggung jawab atas aktivitas anti-oksidan [6]. Senyawa fenolik yang dominan ditemukan pada gabah beras merah antara lain asam ferulic, vanilic, dan p-coumaric [74]. Gabah beras merah dan hitam telah terbukti menunjukkan aktivitas anti-oksidan dan kandungan fenolik yang lebih besar dibandingkan gabah beras nonpigmentasi [47,48]. Jika dibandingkan aktivitas anti-oksidan pada gabah dan beras merah berdasarkan penelitian Agustin *et al.* (in press), gabah Aek Sibundong dengan nilai IC_{50} sebesar 116,83 $\mu\text{g/mL}$ memiliki aktivitas anti-oksidan lebih lemah dibandingkan beras merah Aek Sibundong dengan nilai IC_{50} sebesar 6,65 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan gabah Blambangan dengan nilai IC_{50} sebesar 1,09 $\mu\text{g/mL}$ memiliki aktivitas anti-oksidan lebih kuat dibandingkan beras merah Blambangan dengan nilai IC_{50} sebesar 34 $\mu\text{g/mL}$ [10].

Aktivitas anti-oksidan pada gabah beras merah seharusnya berkorelasi positif dengan kandungan fenolik dan flavonoid. Namun, pada hasil yang didapatkan aktivitas anti-oksidan tidak berkorelasi dengan kadar total fenolik dan flavonoid. Hal ini dimungkinkan karena adanya faktor lain yang mempengaruhi aktivitas anti-oksidan. Kandungan fenolik dan flavonoid yang lebih tinggi tidak selalu memiliki aktivitas anti-oksidan yang tinggi karena aktivitas anti-oksidan bergantung pada sifat kimiawi, yaitu posisi dan jumlah gugus -OH pada fenolik dan flavonoid, keberadaan bagian karbohidrat senyawa fenolik. Kompleksitas proses oksidasi, sifat anti-oksidan yang beragam, komponen hidrofilik, dan hidrofobik, dalam sampel memerlukan metode yang paling tepat dan efektif untuk menentukan aktivitas anti-oksidan [75].

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa aktivitas anti-oksidan senyawa fenolik dan turunannya meningkat secara substansial ketika jumlah gugus hidroksil (-OH) dan metoksi (-OCH₃) meningkat [76,77]. Aktivitas anti-oksidan dari fenolik bergantung pada jumlah dan posisi gugus hidroksil yang melekat pada cincin aromatic. Berdasarkan energi ikatan disosiasi, gugus hidroksil (-OH) pada posisi 3 dan posisi 5 secara signifikan meningkatkan aktivitas anti-oksidan karena lebih mudah mendonorkan elektron. Selain itu, semakin lemah ikatan -OH maka semakin besar kemampuan anti-oksidan untuk menetralkan radikal bebas. Molekul fenolik yang membawa dua gugus hidroksil dalam posisi orto menunjukkan aktivitas anti-oksidan yang tinggi seperti



yang teramati pada asam caffein [78]. Kemampuan aktivitas anti-oksidan flavonoid juga bergantung dengan struktur kimianya. Aktivitas anti-oksidan yang tinggi dari senyawa flavonoid berhubungan dengan keberadaan dan posisi gugus hidroksil yang terikat pada cincin A dan B serta ikatan rangkap C=C dalam konjugasi aromatik [79,80,81]. Seperti fenolik, aktivitas anti-oksidan flavonoid didasarkan pada nilai energi disosiasi ikatan O-H [82]. Kandungan bioaktif metabolit sekunder khususnya senyawa flavonoid dan fenolik di dalam gabah bervariasi untuk tiap kultivar bergantung pada varietas padi, genetik, lingkungan, lokasi penanaman, perawatan, penggilingan, dan penyimpanan padi. Varietas padi yang unggul membutuhkan lingkungan yang mendukung pertumbuhan padi agar potensi genetik yang terkandung dapat berkembang secara optimal. Faktor lingkungan yang mempengaruhi keadaan dan produksi padi adalah iklim berupa cahaya, suhu, curah hujan, dan angin, kesuburan dan kelembaban tanah, dan pengaruh biologis, berupa hama, penyakit, gulma, dan hewan penyerbuk [10,83]. Pengaruh lingkungan dan praktik budidaya berpengaruh lebih besar dibandingkan dengan pengaruh genetik terhadap tanaman padi [84]. Tanaman padi mempunyai pertumbuhan pada suhu antara 20-35°C. Umumnya varietas unggul padi yang ditanam di dataran rendah hingga menengah (0-500 mdpl) [83].

Kabupaten Banyuwangi terletak antara 0-2500 meter di atas permukaan laut. Kabupaten Banyuwangi merupakan kawasan yang subur dengan mayoritas kandungan tanahnya adalah andosol dan alluvial. Wilayah Kabupaten Banyuwangi terdiri dari pegunungan dan dataran rendah. Dataran rendah Kabupaten Banyuwangi terbentang luas dari selatan hingga utara dengan aliran sungai sepanjang tahun. Di Kabupaten Banyuwangi terdapat 35 daerah aliran sungai yang mengairi hamparan sawah dan tentunya berpengaruh positif terhadap tingkat kesuburan tanah. Kabupaten Malang memiliki iklim tropis dengan suhu 20°C-34°C [85] sehingga memungkinkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai anti-oksidan di gabah Blambangan berkembang lebih baik jika dibandingkan dengan Mentik Wangi dan Aek Sibundong.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini diketahui bahwa masing-masing gabah beras merah memiliki spesifitas kandungan fitokimia dan fungsi sebagai anti-oksidan. Kesimpulan dari penelitian ini, yaitu :

1. Pada gabah beras merah Menthik Wangi, Aek Sibundong, dan Blambangan terkandung senyawa fitokimia flavonoid, tritepenoid, fenolik, tanin, dan glikosida. Selain itu, pada gabah Aek Sibundong teridentifikasi pula steroid.
2. Spektrum FTIR menunjukkan ketiga gabah memiliki serapan vibrasi pada daerah bilangan gelombang yang relatif sama. Berdasarkan spektrum FTIR, gugus fungsi yang terkandung dalam gabah beras merah adalah gugus hidroksil, gugus alkana dengan ikatan C-H alifatik dan C-H *stretching*, ikatan C=O *stretching* pada gugus aromatik, ikatan C=C *stretching* pada gugus alkena dan aromatik, ikatan CH₂ dan CH₃, ikatan CH aromatik dan karbonil-karbonat, ikatan CHOH *stretching* dari grup alkohol, dan ikatan C-O.
3. Kemampuan penghambatan radikal bebas tertinggi ada pada gabah beras merah Blambangan, yaitu dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,09 µg/mL. Berdasarkan nilai IC₅₀, gabah Blambangan dan asam askorbat tergolong anti-oksidan yang sangat kuat sedangkan gabah Menthik Wangi dengan nilai IC₅₀ sebesar 124,30 µg/mL dan gabah Aek Sibundong dengan nilai IC₅₀ sebesar 116,83 µg/mL tergolong anti-oksidan yang lemah.

5.2 Saran

Dalam penelitian selanjutnya, dapat dilakukan karakterisasi kandungan flavonoid dan fenolik yang bertanggung jawab terhadap aktivitas biologi seperti anti-oksidan menggunakan LC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

1. Priya, Rathna T. S., Ann Raeboline Lincy Eliazer Nelson, Kavitha Ravichandran, and Usha Antony. (2019). Nutritional and functional properties of coloured rice varieties of South India : a review. *Journal of Ethnic Foods*, 69(11), 2-11. <https://doi.org/10.1186/s42779-019-0017-3>
2. Badan Pusat Statistik. (2020). Luas panen dan produksi padi pada tahun 2020 mengalami kenaikan dibandingkan tahun 2019 masing-masing sebesar 1,02 dan 1,02 persen. www.bps.go.id.
3. Sompong, R., Ehn, S. S., Martin, G. L., and Berghofer, E. (2011). Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China, and Sri Lanka. *J. of Food Chem*, 124, 132-140.
4. Lee, J.H. (2010). Identification and quantification of anthocyanins from the grains of black rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Food Sci Biotechnol*, 19, 391-397.
5. Moko, E.M., H. Purnomo, J. Kusnadi, & F.G.Ijong. (2014). Phytochemical content and antioxidant properties of colored and non colored varieties of rice bran from Minahasa, North Sulawesi, Indonesia. *International Food Research Journal*, 21(3), 1053-1059.
6. Ghasemzadeh, A., M.T. Karbalalal, H.Z.E. Jaafar, and A. Rahmat. (2018). Phytochemical constituents, antioxidant activity, and antiproliferative properties of black, red, and brown rice bran. *Chemistry Central Journal*, 12(17), 1-13.
7. Hosoda K, Sasahara H, Matsushita K, Tamura Y, Miyaji M, Matsuyama H. (2018). Anthocyanin and proanthocyanidin contents, antioxidant activity, and in situ degradability of black and red rice grains. *Asian-Australasian J Anim Sci*, 31(8), 1213– 20.
8. Thitipramote N, Pradmeeteekul P, Ninkamnerd J, Chaiwut P, Pintathong P, Thitilerdecha N. (2016). Bioactive compounds and antioxidant activities of red (*Brown Red Jasmine*) and black (*Kam Leum Pua*) native pigmented rice. *Int Food Res J*, 23(1), 410–4.
9. Gul, K.; Yousuf, B.; Singh, A.K.; Singh, P.; Wani, A.A. (2015). Rice bran: Nutritional values and its emerging potential for development of functional food—A review. *Bioact. Carbohydr. Diet.*, 6, 24–30.



10. Agustin, Ayu T, Anna Safitri, and Fatchiyah Fatchiyah. (in press). Java Red Rice (*Oryza Sativa* L.) Nutritional Value and Anthocyanin Profiles and Potential Role As Antioxidant and Anti-Diabetic. *Indonesian Journal of Chemistry*.
11. Widarta, I Wayan Rai Widarta dan I Wayan Arnata. (2014). Stabilitas Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bekatul Beras Merah Terhadap Oksidator dan Pemanasan pada Berbagai pH. *J. Teknol. dan Industri Pangan*, 25(2), 193-199.
12. Maryam, St, Muzakkir Baits, dan Ainun Nadia. (2015). Pengukuran Aktivitas Anti-Oksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) Menggunakan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 1-4.
13. Yefrida, Nor Ashikin, dan Refilda. (2015). Validasi Metoda FRAP Modifikasi pada Penentuan Kandungan Anti-Oksidan Total dalam Sampel Mangga dan Rambutan, *J. Ris. Kim.*, 8(2), 1-6.
14. Sompong, R., Ehn, S. S., Martin, G. L., and Berghofer, E. (2011). Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China, and Sri Lanka. *J. of Food Chem*, 124, 132-140.
15. Nurhasanah dan Widi Sunaryo. (2015). Keragaman genetik padi lokal Kalimantan Timur. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*, 1(7), 1553-1558.
16. Nuryani. (2013). Potensi Substitusi Beras Putih dengan Beras Merah Sebagai Makanan Pokok untuk Perlindungan Diabetes Melitus. *Media Gizi Masyarakat Indonesia*, 3(3), 157-168.
17. Smith J, Charter E. (2010). Functional Food Product Development. *Blackwell Publishing Ltd.*, United Kingdom.
18. Hegde, S., Yenagi, N., Kasturiba, B. (2013). Indigenous knowledge of the traditional and qualified ayurvedapractitioners on the nutritional significance and use of red rice in medications. *Indian J. Tradit. Knowl*, 12, 506-511.
19. Burlando, B.; Cornara, L. (2014). Therapeutic properties of rice constituents and derivatives (*Oryza sativa* L.):A review update. *Trends Food Sci. Technol*, 40, 82-98.
20. Bhangar, Muhammad Iqbal, Shahid Iqbal, Farooq Anwar, Muhammad Imran, Mubeena Akhtar, and Muhammad Zia-ul-Haq. (2008). Antioxidant potential of rice bran extracts and its effects on stabilisation of cookies under ambient storage,



International Journal of Food Science and Technology, 43, 779–786.

21. Kumar, S.; Pandey, A.K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *Sci. World J*, 162750 [CrossRef] [PubMed].
22. Ahmed, S.I.; Hayat, M.Q.; Tahir, M.; Mansoor, Q.; Ismail, M.; Keck, K.; Bates, R.B. (2016). Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of *Cassia angustifolia* Vahl. *BMC Complement. Altern. Med*, 16, 460, [CrossRef] [PubMed].
23. Pollastri S., Tattini M. (2011). Flavonols: old compounds for old roles. *Ann Bot*, 108:1225-1233.
24. Saxena, Mamta, Dr Jyoti Saxena, and Dr Alka Pradhan. (2012). Flavonoids and Phenolic Acids As Antioxidants In Plants And Human Health, *Int.J.Pharm.Sci.Rev.Res*, 16(2), 130-134.
25. Ghasemzadeh, Ali and Neda Ghasemzadeh. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31), 6697-6703.
26. Pourcel, L., Routaboul, J.M., Cheynier, V., Lepiniec, L., and Debeaujon, I. (2007). Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science*, 12(1), 29-36.
27. J. Lin, S.M. Zhang, K. Wu, W.C. Willett, C.S. Fuchs, E. Giovannucci. (2006). Flavonoid intake and colorectal cancer risk in men and women, *Am. J. Epidemiol*. 164, 644–651.
28. Kapcum, N., Uriyapongson, J., Alli, I. and Phimphilai, S. (2016). Anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant activities in colored corn cob and colored rice bran, *International Food Research Journal*, 23(6), 2347-2356
29. Chen, M. H., Choi, S. H., Kozukue, N., Kim, H. J. and Friedman, M. (2012). Growth-inhibitory effects of pigmented rice bran extracts and three red bran fractions against human cancer cells: relationships with composition and antioxidative activities, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 9151-9161.
30. Yao, Y., Sang, W., Zhou, M. and Ren, G. (2010). Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of colored grains in China, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 770-



774.

31. Goufo, Piebiep and Henrique Trindade. (2013). Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, c-oryzanol, and phytic acid, *Food Science and Nutrition*, 2(2), 75-104.
32. Singh, Nand K, Manjoo Rani, Sharmila Raj T, and Alok Kumar Yadav. (2017). Flavonoids in rice, their role in health benefits, *MOJ Food Processing & Technology*, 4(3), 96-99.
33. Krishnamurthy, P., Wadhwani, A. (2012). Antioxidant enzymes and human health, *antioxidant enzyme, El-Missiry, M. A. (ed.)*, InTech.
34. Rukmana, Rizal Maarif, Nyoman Puniawati Soesilo, Rumiati, Rarastoeti Pratiwi. (2016). The Effect of Ethanolic Extract of Black and White Rice Bran (*Oryza sativa*L.) on Cancer Cells, *Indonesian Journal of Biotechnology*, 21(1), 63–69.
35. Pratiwi, R., Tunjung, W.A.S., Rumiati, and Amalia, A.R. (2015). Apoptosis Induction in Human cervical Cancer Cells by Pigmented Rice Bran Fractions Containing Cyanidin 3-glucoside and Peonidin 3-glucoside. *J.Biotechnol*, 20(1), 1926.
36. Dachriyanus. (2004). Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi. Padang : Lembaga Pengembangan Teknologi Infomasi dan Komunikasi LPTIK Universitas Andalas.
37. Suseno, Jatmiko Endro dan K. Sofjan Firdausi. (2008). Rancang Bangun Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared) untuk Penentuan Kualitas Susu Sapi, *Berkala Fisika*, 11(1), 23-28.
38. Anam, C., & Firdausi, K. S. (2007). Analisis Gugus Fungsi Pada Sampel Uji, Bensin dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR, 10, 7.
39. Winarsi, H. (2007). Anti-oksidan Alami dan Radikal Bebas, Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Jakarta : Kansus.
40. Murray R. K., Granner D.K., Rodwell V.W.. (2009). Biokimia Harper, Edisi 27. Penerbit Buku Kedokteran, EGC : Jakarta.
41. Rohman, A. (2006). Pelacak Anti-oksidan Serta Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*L.), Tesis, Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
42. Mohammed Y.Q., Hamad M. W., and Mohammed K. E. (2009). Spectrophotometric Determination of Total Vitamin C



in Some Fruits and Vegetables at koya Area–Kurdistan Region/ Iraq, *Journal of Kirkuk University*.

43. Winarti, Sri. (2010). Makanan Fungsional. Yogyakarta : Graha Ilmu.
44. Podsedek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review, *LWT - Food Science and Technology*, 40(1), 1-11.
45. Krishnamurthy, P., Wadhvani, A. (2012). Antioxidant enzymes and human health, *antioxidant enzyme*, El-Missiry, M. A. (ed.), InTech.
46. Kim, O.S. (2005). Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of The Vitamin Fraction In rice bran, *J Food Sci.*(3), 208-213.
47. Muntana N, Prasong S. (2010). Study on total phenolic contents and their antioxidant activities of Thai white, red and black rice bran extracts, *Pak J Biol Sci*, 13, 170-4.
48. Higashi-Okai K, Ishida E, Nakamura Y, Fujiwara S, Okai Y. (2008). Potent antioxidant and radical-scavenging activities of traditional Japanese cereal grains, *JUOEH*, 30, 375-89.
49. Lisi, Anastasia Kazia Friany, Max R. J. Runtuwene, dan Defny S. Wewengkang. (2017). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Bunga Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC.), *Jurnal Ilmiah Farmasi Pharmacon*, 6(1), 53-61.
50. Yuda, Putu Era Sandhi Kusuma, Erna Cahyaningsih, Ni Luh dan Putu Yuni Winariyanthi. (2017). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.) . Bali : Akademi Farmasi Saraswati Denpasar.
51. Wanyo, Pitchaporn, Regine Schoenlechner, Naret Meeso, and Sirithon Siriamornpun. (2014). Antioxidant Activities and Sensory Properties of Rice Bran with Marigold Tea. *Food and Applied Bioscience Journal*, 2(1), 1-14.
52. Suffredini, I.B.; Sader, H.S.; Gonçalves, A.G.; Reis, A.O.; Gales, A.C.; Varella, A.D.; Younes, R.N. (2004). Screening of antibacterial extracts from plants native to the brazilian amazon rain forest and atlantic forest. *Braz. J. Med. Biol. Res*, 37, 379–384.
53. Boots, A.W.; Haenen, G.R.; Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *Eur. J.*

Pharmacol, 585, 325–337.

54. Batubara, I, M. Maharni, and S. Sadih. (2016). The Potency of White Rice (*Oryza sativa*), Black Rice (*Oryza sativa* L. *indica*), and Red Rice (*Oryza nivara*) as Antioxidant and Tyrosinase Inhibitor. *Journal of Physics: Conference Series*, 1-6.
55. Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71-79.
56. Kusnadi, E.T., dan Devi. (2017). Isolasi dan Identifikasi senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dengan metode Refluks. *PSEJ*, 2(1), 56-67.
57. Achmad S A. (1986). Kimia Organik Bahan Alam. Jakarta: Karunika.
58. Afif, S. (2013). Ekstraksi Uji toksisitas dengan Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah (*eucheuma Spinosum*) dari perairan Sumenep Madura. Malang : Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
59. Zamroni, M. (2011). Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Tanaman Anting-Anting (*Acalipha Indica* L). *Skripsi*. UIN Malang
60. Dian Arista Setiabudi and Tukiran. (2017). Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium litorale*). *UNESA Journal of Chemistry*, 6(3), 155-160.
61. Sagar R. (2016). Together with chemistry with solution. New Delhi : Rachna Sagar Private.
62. Marlina, S., Suryanti., dan Suryono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis KLT Komponen Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
63. Tiwari, Prashant., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G & Kaur, H. (2011). Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98-106.
64. Daffalla, S.B, H. Mukhtar, and M.S. Shaharun. (2010). Characterization of Adsorbent Developed from Rice Husk: Effect of Surface Functional Group on Phenol Adsorption. *Journal off Applied Science*, 1-9.
65. Astuti, M.D., Evi M.K., dan Farah EPW. (2014). Isolasi dan



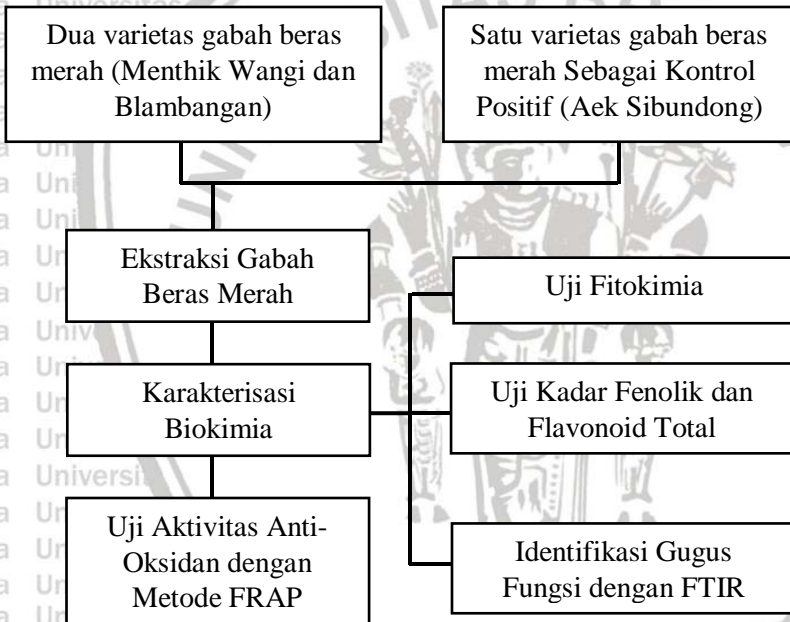
- Identifikasi Terpenoid dari Fraksi n-Butanol Herba Lampasau (*Diplazium esculentum* Swartz) Ketahanan dan Pengaruh Fitotoksik Campuran Ekstrak *Piper Retrofractum* dan *Annona Squamosa* pada Pengujian Semi Lapangan. *Jurnal HPT Tropika*, 7(2), 91–99.
66. Sari, PP., Rita W.S., dan Puspawati N.M. (2015). Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman*, Jacq Merr) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia*, 9(1), 27-34.
 67. Gafur, M.A., Isa I, dan Bialangi, N. (2015). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Jamblang (*Syzygium cumini*). *Jurnal Kimia*, 1(1), 1-11.
 68. Riza, A.& Hari, S. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), 73–80.
 69. Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemical and A Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine, *J. Agric. Food Chem*, 51(25), 7292-7295.
 70. Indrayani, S. (2008). Validasi Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Krim Secara Kolorimetri dengan Pereaksi $AlCl_3$, Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
 71. Azizah,D.N., Kumolowati,E., dan Faramayuda, F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 45-49.
 72. Kelly, S. G. (2011). Alternative Medicine Review. *Journal Quersetin*, 16(2).
 73. I. C. F. R. Ferreira, P. Baptista, M. Vilas-Boas, and L. Barros. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wildedible mushrooms from northeast Portugal: individual capand stipe activity. *Food Chemistry*, 100(4), 1511–1516.
 74. Jun H Il, Song GS, Yang EI, Youn Y, Kim YS. (2012). Antioxidant Activities and Phenolic Compounds of Pigmented Rice Bran Extracts. *J Food Sci*, 77(7), 1–6.
 75. R. Amorati and L. Valgimigli. (2015). Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants. *Free*

Radical Research, , 49(5), 633–649.

76. Dziedzic SZ, B. Hudson BJJ. (1984). *Food Chem*, 12, 205.
77. Nardini M, D'Aquino M, Tmassi G, Gentili V, Di Felice M, Scaccini C. (1995). Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by caffeic acid and other hydroxycinnamic acid derivatives. *Free Radic Biol Med*, 19, 541-52.
78. Nsangou M, Dhaouadi Z, Jaidane N, Lakhdar ZB. (2008). DFT study of the structure of hydroxybenzoic acids and their reactions with OH and O₂-radicals. *J. Mol. Struc: THEOCHEM*, 850, 135-143.
79. Wang TY, Li Q, Bi KS. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian J. Pharm. Sci*, 13, 12-23.
80. Harborne JB, and Williams CA. (2000). Advances in flavonoid research since. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
81. Cai YZ, Sun M, Xing J, Luo Q, Corke H. (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sci*, 78, 2872-2888.
82. Wright JS., Johnson ER., DiLabio GA. (2001). Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 123(6), 1173-1183.
83. Saptomo, S.K, Chairidin, Y., Setiawan, B.I., & Sofiyuddin, H.A. (2012). Peningkatan efisiensi irigasi dengan introduksi sistem otomatisasi pada sistem irigasi di lahan produksi pangan. Himpunan Ahli Teknik Hidraulik Indonesia, 407-417.
84. Suprihatno, B., A.A. Daradjat, Satoto, S.E. Baehaki, N. Widiarta, A.Setyono, S.D. Indrasari, O.S. Lesmana, dan H. Sembiring. (2007). Deskripsi varietas padi. Sukamandi : Balai Besar Penelitian Tanaman Padi.
85. Badan Perencanaan Pembangunan Daerah Kabupaten Banyuwangi. (2017). Rencana Program Investasi Jangka Menengah (RPIJM) Kabupaten Malang 2017-2021.
86. Kharenina. (2021). *Makalah Statistik Ekonomi II Pengujian Statistik Menggunakan ANOVA*. Jambi : Universitas Jambi.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian Secara Umum



Lampiran B. Diagram Alir

B.1 Pemisahan Gabah dari Biji Beras Merah

Padi beras merah tiap varian

- Biji padi dimasukkan ke dalam *blender*
- *Blender* dinyalakan dengan kecepatan medium
- Gabah dihaluskan kembali dengan *blender* sampai menjadi bubuk dan disaring

Bubuk gabah beras merah

B.2 Pembuatan Ekstrak Gabah Beras Merah

Bubuk gabah beras merah

- Ditimbang sebanyak 200 gram
- Ditambahkan pelarut metanol sebanyak 800 mL (1:4)
- Dimaserasi selama 3x24 jam
- Ekstrak disaring dengan menggunakan kertas saring
- Pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* (suhu 50°C dan kecepatan 95 rpm)

Ekstrak gabah kental

B.3 Uji Fitokimia Ekstrak Gabah Beras Merah

B.3.1 Uji Flavonoid

Sampel gabah beras merah

- Dimasukkan sampel sebanyak 1 mL ke tabung reaksi
- Ditambahkan NaOH 10% sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat
- Diamati perubahan dan diukur absorbansi pada 430 nm

Hasil uji flavonoid

B.3.2 Uji Triterpenoid

Sampel gabah beras merah

- Dimasukkan sampel sebanyak 1 mL ke tabung reaksi
- Ditambahkan 0,5 mL kloroform dan 1 mL H_2SO_4 pekat
- Diamati perubahan dan diukur absorbansi pada 544 nm

Hasil uji triterpenoid

B.3.3 Uji Steroid

Sampel gabah beras merah

- Dimasukkan sampel sebanyak 1 mL ke tabung reaksi
- Ditambahkan 2 tetes HCl dan 1 tetes H_2SO_4 pekat
- Diamati perubahan dan diukur absorbansi pada 276 nm

Hasil uji steroid

B.3.4 Uji Fenolik

Sampel gabah beras merah

- Dimasukkan sampel sebanyak 1 mL ke tabung reaksi
- Ditambahkan 3 tetes FeCl_3 5%
- Diamati perubahan dan diukur absorbansi pada 575 nm

Hasil uji fenolik

B.3.5 Uji Tannin

Sampel gabah beras merah

- Dimasukkan sampel sebanyak 1 mL ke tabung reaksi
- Ditambahkan 0,5 mL FeCl_3 1%
- Diamati perubahan dan diukur absorbansi pada 725 nm

Hasil uji tannin

B.3.6 Uji Alkaloid

Sampel gabah beras merah

- Dimasukkan sampel sebanyak 1 mL ke tabung reaksi
- Ditambahkan 10 tetes H_2SO_4 2N dan dikocok kuat
- Ditambahkan 0,5 mL reagen Wagner
- Diamati perubahan dan diukur absorbansi pada 470 nm

Hasil uji alkaloid

B.3.7 Uji Glikosida

Sampel gabah beras merah

- Dimasukkan sampel sebanyak 1 mL ke tabung reaksi
- Ditambahkan 1 mL asam asetat glasial dan 0,5 mL FeCl_3 5%
- Ditambahkan larutan H_2SO_4 1M
- Diamati perubahan dan diukur absorbansi pada 600 nm

Hasil uji glikosida

B.3.8 Uji Saponin

Sampel gabah beras merah

- Dimasukkan sampel sebanyak 1 mL ke tabung reaksi
- Ditambahkan 5 mL air panas, 2 tetes HCl 2N, dan divorteks
- Diamati perubahan dan diukur absorbansi pada 435 nm

Hasil uji saponin

B.4 Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Gabah Beras Merah

Sampel gabah beras merah

- Diambil sebanyak 0,2 mL
- Dicampur dengan 0,6 mL aquades dan 0,2 mL reagen fenol Folin-Ciocalteu (1:1).
- Setelah 5 menit, ditambahkan 1 mL larutan natrium karbonat jenuh (8% b/v dalam air)
- Dibuat volume larutan menjadi 3 mL dengan aquades
- Campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit
- Absorbansi dari larutan diukur pada panjang gelombang 745 nm dengan spektrofotometer UV-Vis
- Kandungan fenolik dihitung sebagai setara asam galat GAE/g bahan tanaman kering berdasarkan kurva standar asam galat

Kadar fenolik total

B.5 Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Gabah Beras Merah

Sampel gabah beras merah

— Diambil sebanyak 0,6 mL

— Dicampur dengan 0,6 mL aluminium klorida 2%

— Larutan diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang.

— Absorbansi dari larutan diukur pada panjang gelombang 418 nm dengan spektrofotometer UV-Vis

— Kandungan flavonoid dihitung sebagai ekuivalen quercetin (QE)/g bahan tanaman kering berdasarkan kurva standar

Kadar flavonoid total

B.6 Uji Aktivitas Anti-oksidan dengan Metode FRAP

Sampel gabah beras merah

Dibuat larutan *stock* tiap ekstrak gabah dengan konsentrasi 100 µg/mL dan 1000 µg/mL

Dibuat variasi konsentrasi untuk gabah Menthik Wangi dan Aek Sibudong dengan seri 0, 120, 140, 160, 180, 200 µg/mL dan variasi konsentrasi untuk gabah Blambangan dengan seri 0, 2, 4, 6, 8, 10 µg/mL

Ditambahkan 200 mmol/L buffer phosphat pH 6,6 sebanyak 2,5 mL dan 1% pottasium ferricyanida sebanyak 2,5 mL

Larutan diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit

Ditambahkan 2,5 mL TCA 10% dan dihomogenasi

Diambil 5 mL larutan dan dipindahkan ke tabung reaksi baru

Ditambahkan 5 mL aquades dan 1 mL ferri klorida 0,1%

Campuran dihomogenisasi

Diukur absorbansi pada panjang gelombang 700 nm

Dilakukan pula pengukuran aktivitas anti-oksidan asam askorbat dengan variasi konsentrasi 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL

Nilai IC₅₀

B.7 Identifikasi Ekstrak Gabah Beras Merah Menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

Ekstrak gabah beras merah

Diteteskan ekstrak sampel pada satu bagian window KBr

Dipasang satu bagian window KBr yang lain

Disiapkan window KBr pada holder

Dinyalakan instrumen FTIR dan identifikasi berlangsung

Gugus fungsi senyawa dari ekstrak gabah

Lampiran C. Perhitungan Percobaan

C.1 Hasil Ekstrak Gabah Beras Merah

Bubuk gabah sebanyak 200 gram dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 400 mL. Kemudian, pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental gabah beras merah. Hasil ekstrak dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persen rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

C.2 Pembuatan Larutan Sampel untuk Uji Fitokimia

Ekstrak kental gabah beras merah tiap varian diambil sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan di dalam 10 mL pelarut metanol.

C.3 Pembuatan Larutan NaOH 10%

Padatan NaOH ditimbang sebanyak 1 gram. Kemudian, dilarutkan dengan aquades secukupnya di dalam gelas kimia dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Berikutnya, ditambahkan aquades sampai tanda batas.

C.4 Pembuatan Larutan FeCl₃ 5%

Padatan FeCl₃ ditimbang sebanyak 0,5 gram. Kemudian, dilarutkan dengan aquades secukupnya di dalam gelas kimia dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Berikutnya, ditambahkan aquades sampai tanda batas.

C.5 Pembuatan Larutan FeCl₃ 1%

Padatan FeCl₃ ditimbang sebanyak 0,1 gram. Kemudian, dilarutkan dengan aquades secukupnya di dalam gelas kimia dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Berikutnya, ditambahkan aquades sampai tanda batas.

C.6 Pembuatan Larutan H₂SO₄ 2N

Dilakukan pengenceran dari larutan H₂SO₄ 96%. Dilakukan penentuan normalitas larutan H₂SO₄ 96% dengan rumus berikut :

$$N = \frac{10 \times \text{persentase} \times \text{berat jenis} \times \text{valensi}}{\text{berat molekul}} = \frac{10 \times 96\% \times 1,84 \frac{g}{mL} \times 2}{98 g/mol} = 36N$$

Maka, untuk mendapatkan larutan H₂SO₄ 2N dilakukan pengenceran dengan rumus berikut :

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 36N = 10 \text{ mL} \times 2N$$

$$V_1 = 0,56 \text{ mL}$$

Jadi, volume H_2SO_4 96% yang dibutuhkan untuk membuat larutan H_2SO_4 2N adalah sebanyak 0,56 mL.

C.7 Pembuatan Larutan H_2SO_4 1M

Dilakukan pengenceran dari larutan H_2SO_4 96%. Dilakukan penentuan molaritas larutan H_2SO_4 96% dengan rumus berikut :

$$M = \frac{10 \times \text{persentase} \times \text{berat jenis}}{\text{berat molekul}} = \frac{10 \times 96\% \times 1,84 \frac{\text{g}}{\text{mL}}}{98 \text{ g/mol}} = 18M$$

Maka, untuk mendapatkan larutan H_2SO_4 1M dilakukan pengenceran dengan rumus berikut :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 18M = 10 \text{ mL} \times 1M$$

$$V_1 = 0,56 \text{ mL}$$

Jadi, volume H_2SO_4 96% yang dibutuhkan untuk membuat larutan H_2SO_4 1M adalah sebanyak 0,56 mL.

C.8 Pembuatan Larutan HCl 2N

Dilakukan pengenceran dari larutan HCl 37%. Dilakukan penentuan normalitas larutan HCl 37% dengan rumus berikut :

$$N = \frac{10 \times \text{persentase} \times \text{berat jenis} \times \text{valensi}}{\text{berat molekul}} = \frac{10 \times 37\% \times 1,19 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \times 1}{36,5 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 12,06N$$

Maka, untuk mendapatkan larutan HCl 2N dilakukan pengenceran dengan rumus berikut :

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 12,06N = 10 \text{ mL} \times 2N$$

$$V_1 = 1,66 \text{ mL}$$

Jadi, volume HCl 37% yang dibutuhkan untuk membuat larutan HCl 2N adalah sebanyak 1,66 mL.

C.9 Pembuatan Larutan *Stock* Gabah Beras Merah

Ekstrak kental gabah beras merah tiap varian ditimbang sebanyak 0,001 gram dan 0,01 gram. Kemudian, masing-masing dilarutkan dengan metanol secukupnya di dalam gelas kimia dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Berikutnya, ditambahkan metanol sampai tanda batas. Didapatkan larutan *stock* gabah beras merah dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 1000 $\mu\text{g/mL}$.

C.10 Pembuatan Variasi Konsentrasi Gabah Beras Merah

Dilakukan pengenceran dari larutan *stock* gabah beras merah dengan konsentrasi 100 µg/mL.

Ekstrak gabah beras merah 10 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ µg/mL} = 10 \text{ mL} \times 10 \text{ µg/mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Ekstrak gabah beras merah 100 µg/mL diambil sebanyak 1 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Ekstrak gabah beras merah 8 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ µg/mL} = 10 \text{ mL} \times 8 \text{ µg/mL}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ mL}$$

Ekstrak gabah beras merah 100 µg/mL diambil sebanyak 0,8 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Ekstrak gabah beras merah 6 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ µg/mL} = 10 \text{ mL} \times 6 \text{ µg/mL}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ mL}$$

Ekstrak gabah beras merah 100 µg/mL diambil sebanyak 0,6 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Ekstrak gabah beras merah 4 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ µg/mL} = 10 \text{ mL} \times 4 \text{ µg/mL}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

Ekstrak gabah beras merah 100 µg/mL diambil sebanyak 0,4 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Ekstrak gabah beras merah 2 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ µg/mL} = 10 \text{ mL} \times 2 \text{ µg/mL}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL}$$

Ekstrak gabah beras merah 100 µg/mL diambil sebanyak 0,2 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Dilakukan pengenceran dari larutan *stock* gabah beras merah dengan konsentrasi 1000 µg/mL.

Ekstrak gabah beras merah 100 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ µg/mL} = 10 \text{ mL} \times 100 \text{ µg/mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Ekstrak gabah beras merah 1000 µg/mL diambil sebanyak 1 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Ekstrak gabah beras merah 80 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ µg/mL} = 10 \text{ mL} \times 80 \text{ µg/mL}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ mL}$$

Ekstrak gabah beras merah 1000 µg/mL diambil sebanyak 0,8 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Ekstrak gabah beras merah 60 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ µg/mL} = 10 \text{ mL} \times 60 \text{ µg/mL}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ mL}$$

Ekstrak gabah beras merah 1000 µg/mL diambil sebanyak 0,6 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Ekstrak gabah beras merah 40 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 \mu\text{g/mL} = 10 \text{ mL} \times 40 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

Ekstrak gabah beras merah 1000 µg/mL diambil sebanyak 0,4 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Ekstrak gabah beras merah 20 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 \mu\text{g/mL} = 10 \text{ mL} \times 20 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL}$$

Ekstrak gabah beras merah 1000 µg/mL diambil sebanyak 0,2 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

C.11 Pembuatan Larutan Aluminium Klorida 2%

Padatan AlCl_3 ditimbang sebanyak 0,2 gram. Kemudian, dilarutkan dengan aquades secukupnya di dalam gelas kimia dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Berikutnya, ditambahkan aquades sampai tanda batas.

C.12 Pembuatan Larutan 0,2M buffer phosphat pH 6,6

Digunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{asam lemah}]}{[\text{basa konjugasi}]}$$

Dimana :

$$K_a [\text{H}_2\text{PO}_4]^+ = 6,23 \times 10^{-8}$$

$$\text{pKa} [\text{H}_2\text{PO}_4]^+ = 7,2$$

$$\text{Mr } \text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} = 138 \text{ g/mol}$$

$$\text{Mr } \text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 178 \text{ g/mol}$$

Untuk pH 6,6 dengan konsentrasi 0,2M :

$$6,6 = 7,2 + \log \frac{[\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}]}{[\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]}$$

$$-0,6 = \log \frac{[\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}]}{[\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]}$$

$$\frac{0,251}{1} = \frac{[NaH_2PO_4 \cdot H_2O]}{[Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O]}$$

Penentuan massa $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$

$$\%NaH_2PO_4 \cdot H_2O = \frac{0,251}{1+0,251} \times 100 = 20,06\%$$

Massa $NaH_2PO_4 \cdot H_2O = \% \times M \times V \times Mr$

$$= 20,06 \times 0,2M \times 138 \text{ g/mol} \times 0,5 \text{ L} = 2,76 \text{ g}$$

Penentuan massa $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$

$$\%Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O = \frac{1}{1+0,251} \times 100 = 79,94\%$$

Massa $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O = \% \times M \times V \times Mr$

$$= 79,94 \times 0,2M \times 178 \text{ g/mol} \times 0,5 \text{ L}$$

$$= 14,229 \text{ g}$$

Maka, untuk membuat larutan 0,2M buffer posfat pH 6,6 sebanyak 0,5L dibutuhkan padatan $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ sebanyak 2,76 gram dan padatan $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ sebanyak 14,229 gram.

C.13 Pembuatan Larutan 1% Pottasium Ferrisianida

Padatan pottasium ferricyanida ditimbang sebanyak 0,1 gram. Kemudian, dilarutkan dengan aquades secukupnya di dalam gelas kimia dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Berikutnya, ditambahkan aquades sampai tanda batas.

C.14 Pembuatan Larutan TCA 10%

Padatan TCA ditimbang sebanyak 1 gram. Kemudian, dilarutkan dengan aquades secukupnya di dalam gelas kimia dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Berikutnya, ditambahkan aquades sampai tanda batas.

C.15 Pembuatan Larutan Ferri Klorida 0,1%

Padatan ferri klorida ditimbang sebanyak 0,01 gram. Kemudian, dilarutkan dengan aquades secukupnya di dalam gelas kimia dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Berikutnya, ditambahkan aquades sampai tanda batas.

C.16 Pembuatan Larutan Stock Asam Askorbat

Padatan asam askorbat ditimbang sebanyak 0,001 gram. Kemudian, dilarutkan dengan metanol secukupnya di dalam gelas kimia dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Berikutnya, ditambahkan metanol sampai tanda batas. Didapatkan larutan *stock*

asam askorbat dengan konsentrasi 100 µg/mL.

C.17 Pembuatan Variasi Konsentrasi Asam Askorbat

Dilakukan pengenceran dari larutan *stock* asam askorbat dengan konsentrasi 100 µg/mL.

Asam askorbat 10 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} = 10 \text{ mL} \times 10 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Asam askorbat 100 µg/mL diambil sebanyak 1 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Asam askorbat 8 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} = 10 \text{ mL} \times 8 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ mL}$$

Asam askorbat 100 µg/mL diambil sebanyak 0,8 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Asam askorbat 6 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} = 10 \text{ mL} \times 6 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ mL}$$

Asam askorbat 100 µg/mL diambil sebanyak 0,6 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Asam askorbat 4 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} = 10 \text{ mL} \times 4 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

Asam askorbat 100 µg/mL diambil sebanyak 0,4 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai

homogen.

Asam askorbat 2 µg/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} = 10 \text{ mL} \times 2 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL}$$

Asam askorbat 100 µg/mL diambil sebanyak 0,2 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian, ditambahkan pelarut metanol sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

C.18 Perhitungan IC₅₀

Nilai IC₅₀ dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ anti-oksidan} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100 \%$$

Keterangan :

% anti-oksidan : persen penghambatan radikal bebas

Absorbansi kontrol : absorbansi tanpa inhibitor

Absorbansi sampel : absorbansi dengan inhibitor

Lampiran D. Perhitungan Hasil

D.1 Hasil Ekstrak Gabah Beras Merah

Hasil ekstrak gabah beras merah yang didapatkan dari hasil maserasi adalah sebagai berikut :

Tabel D.1. Hasil Ekstrak Gabah Beras Merah

Jenis Gabah	Hasil Penimbangan Ekstrak (g)			Rata-Rata Berat Ekstrak (g)	Persen Randemen (%)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
Menthik Wangi	3,53	3,52	3,52	$3,52 \pm 0,0058$	1,76
Aek Sibundong	4,92	4,93	4,93	$4,93 \pm 0,0058$	2,47
Blambangan	3,46	3,46	3,46	3,46	1,73

$$\text{Persen rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

a. Gabah Mentihik Wangi

$$\text{Persen rendemen} = \frac{3,52 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 100 \% = 1,76\%$$

b. Gabah Aek Sibundong


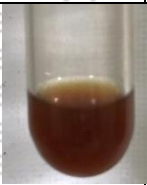
$$\text{Persen rendemen} = \frac{4,93}{200 \text{ g}} \times 100 \% = 2,47\%$$




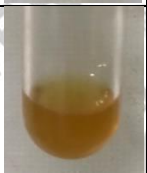
c. Gabah Blambangan

$$\text{Persen rendemen} = \frac{3,46}{200 \text{ g}} \times 100 \% = 1,73\%$$


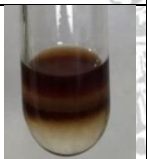

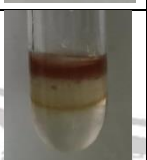


D.2 Hasil Uji Fitokimia

Tabel D.2: Hasil Uji Flavonoid Gabah Beras Merah



Sampel	Perubahan Warna		Keterangan	Absorbansi	Hasil
	Sebelum	Sesudah			
Gabah Mentihik Wangi			Terjadi perubahan warna menjadi coklat gelap	2,748	Positif





Gabah Aek Sibundo ng			Terjadi perubahan warna menjadi coklat	1,479	Positif
Gabah Blamban ngan			Terjadi perubahan warna menjadi coklat	1,198	Positif

Tabel D.3: Hasil Uji Triterpenoid Gabah Beras Merah


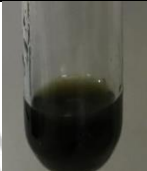

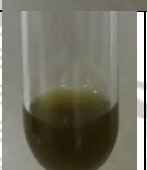

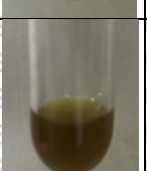
Sampel	Perubahan Warna		Keterangan	Absor bansi	Hasil
	Sebelum	Sesudah			
Gabah Menthik Wangi			Terbentuk cincin coklat	3,728	Positif
Gabah Aek Sibundo ng			Terbentuk cincin coklat	1,174	Positif
Gabah Blamban ngan			Terbentuk cincin coklat	1,445	Positif

Tabel D.4: Hasil Uji Steroid Gabah Beras Merah





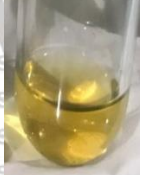

Sampel	Perubahan Warna		Keterangan	Absor bansi	Hasil
	Sebelum	Sesudah			
Gabah Menthik Wangi			Terjadi perubahan warna menjadi coklat	-	Negatif

Gabah Aek Sibundong			Terjadi perubahan warna menjadi hijau	0,616	Positif
Gabah Blambangan			Terjadi perubahan warna menjadi coklat	-	Negatif





Tabel D.5: Hasil Uji Fenolik Gabah Beras Merah

Sampel	Perubahan Warna		Keterangan	Absorbansi	Hasil
	Sebelum	Sesudah			
Gabah Menthik Wangi			Terjadi perubahan warna menjadi hijau gelap	1,157	Positif
Gabah Aek Sibundong			Terjadi perubahan warna menjadi hijau	1,030	Positif
Gabah Blambangan			Terjadi perubahan warna menjadi hijau	0,909	Positif

Tabel D.6: Hasil Uji Tannin Gabah Beras Merah

Sampel	Perubahan Warna		Keterangan	Absorbansi	Hasil
	Sebelum	Sesudah			
Gabah Menthik Wangi			Terjadi perubahan warna menjadi hijau gelap	1,526	Positif
Gabah Aek Sibundong			Terjadi perubahan warna menjadi hijau	1,384	Positif
Gabah Blambangan			Terjadi perubahan warna menjadi hijau	0,785	Positif







Tabel D.7: Hasil Uji Alkaloid Gabah Beras Merah

Sampel	Perubahan Warna		Keterangan	Absorbansi	Hasil
	Sebelum	Sesudah			
Gabah Menthik Wangi			Terjadi perubahan warna menjadi coklat dan tidak ada endapan	-	Negatif
Gabah Aek Sibundong			Terjadi perubahan warna menjadi coklat dan tidak ada endapan	-	Negatif







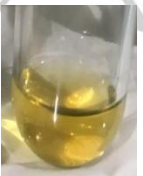

Gabah Blambangan			Terjadi perubahan warna menjadi coklat dan tidak ada endapan	-	Negatif
------------------	---	---	--	---	---------

Tabel D.8: Hasil Uji Glikosida Gabah Beras Merah

Sampel	Perubahan Warna		Keterangan	Absorbansi	Hasil
	Sebelum	Sesudah			
Gabah Mentik Wangi			Terbentuk cincin coklat	0,777	Positif
Gabah Aek Sibundong			Terbentuk cincin coklat	0,102	Positif
Gabah Blambangan			Terbentuk cincin coklat	0,483	Positif

Tabel D.9: Hasil Uji Saponin Gabah Beras Merah

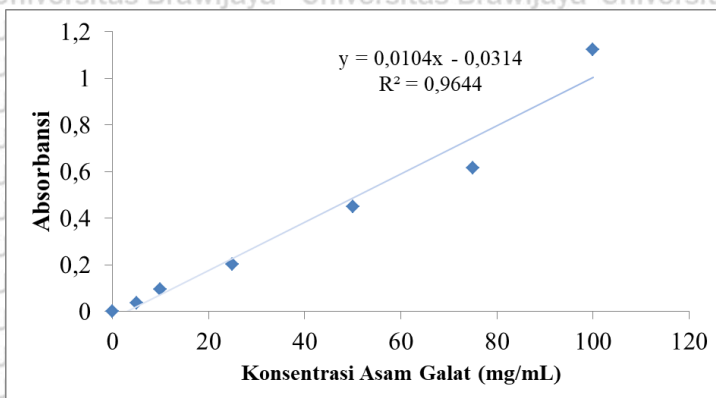
Sampel	Perubahan Warna		Keterangan	Absorbansi	Hasil
	Sebelum	Sesudah			
Gabah Mentik Wangi			Terjadi perubahan menjadi keruh dan tidak muncul buih	-	Negatif

Gabah Aek Sibundong			Terjadi perubahan menjadi keruh dan tidak muncul buih	-	Negatif
Gabah Blambangan			Terjadi perubahan menjadi keruh dan tidak muncul buih	-	Negatif

D.3 Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Gabah Beras Merah

Tabel D.10: Absorbansi Asam Galat

Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi			Rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
0	0	0	0	0
5	0,034	0,040	0,036	0,037
10	0,097	0,095	0,098	0,097
25	0,227	0,189	0,194	0,203
50	0,453	0,452	0,445	0,45
75	0,633	0,597	0,613	0,614
100	0,786	0,913	1,670	1,123



Gambar D.1: Kurva Standar Asam Galat

Tabel D.11: Hasil pengukuran absorbansi ekstrak gabah (FP =10)

Jenis Gabah	Absorbansi	Rerata (Xbar)
Menthik wangi	0,204	0,204
	0,205	
	0,204	
Aek Sibundong	0,134	0,133
	0,132	
	0,132	
Blambangan	0,069	0,068
	0,068	
	0,068	

Tabel D.12: Massa Gabah yang Digunakan

Jenis Gabah	Massa Penimbangan(g)
Menthik wangi	0,021
Aek sibundong	0,020
Blambangan	0,020

Nilai x dari persamaan $y=0,0104x -0,0314$ didapatkan hasil berikut:

Tabel D.13: Nilai konsentrasi (x)

Jenis Gabah	Absorbansi	Nilai x (mg/mL)	Nilai Rata-Rata x (mg/mL)
Menthik wangi	0,204	$22,64 \pm 0,056$	$22,67 \pm 0,056$
	0,205	$22,73 \pm 0,056$	
	0,204	$22,64 \pm 0,056$	
Aek Sibundong	0,134	$15,90 \pm 0,11$	$15,77 \pm 0,11$
	0,132	$15,71 \pm 0,11$	
	0,132	$15,71 \pm 0,11$	
Blambangan	0,069	$9,65 \pm 0,056$	$9,59 \pm 0,056$
	0,068	$9,56 \pm 0,056$	
	0,068	$9,56 \pm 0,056$	

Rumus perhitungan :

Total kandungan fenolik = (C.V. FP) : m

dengan C= konsentrasi hasil perhitungan dari absorbansi yang didapat (mg/mL)

V= volume ekstrak sampel (mL)
m= massa senyawa uji (g)
FP = faktor pengenceran

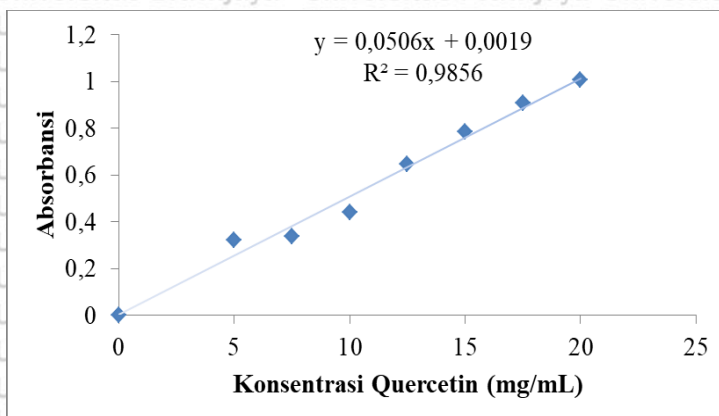
Tabel D.14: Kadar Fenolik Total

Jenis Gabah	TPC (mg GAE/g)
Menthik wangi	2200,97 ± 0,056
Aek sibundong	1578 ± 0,11
Blambangan	949,48 ± 0,056

D.4 Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Gabah Beras Merah

Tabel D.15: Absorbansi Quercetin

Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi			Rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
0	0	0	0	0
5	0,32	0,322	0,321	0,321
7,5	0,346	0,33	0,338	0,338
10	0,431	0,453	0,442	0,442
12,5	0,631	0,662	0,647	0,647
15	0,79	0,777	0,784	0,784
17,5	0,901	0,91	0,906	0,906
20	0,937	1,076	1,007	1,007



Gambar D.2: Kurva Standar Quercetin

Tabel D.16: Hasil Pengukuran Absorbansi Gabah (FP =10)

Jenis Gabah	Absorbansi	Rerata (Xbar)
Menthik wangi	0,257	0,257
	0,256	
	0,257	
Aek Sibundong	0,204	0,204
	0,204	
	0,203	
Blambangan	0,193	0,193
	0,193	
	0,193	

Tabel D.17: Massa Gabah yang Digunakan

Jenis Gabah	Massa Penimbangan(g)
Menthik wangi	0,021
Aek sibundong	0,020
Blambangan	0,020

Nilai x dari persamaan $y = 0,0506x + 0,0019$ didapatkan hasil berikut:

Tabel D.18: Nilai konsentrasi (x)

Jenis Gabah	Absorbansi	Nilai x (mg/mL)	Nilai Rata-Rata x (mg/mL)
Menthik wangi	0,257	$5,04 \pm 0,011$	$5,04 \pm 0,011$
	0,256	$5,02 \pm 0,011$	
	0,257	$5,04 \pm 0,011$	
Aek Sibundong	0,204	$3,99 \pm 0,011$	$3,99 \pm 0,011$
	0,204	$3,99 \pm 0,011$	
	0,203	$3,97 \pm 0,011$	
Blambangan	0,193	3,78	3,78
	0,193	3,78	
	0,193	3,78	

Rumus perhitungan :

Total kandungan flavonoid = (C.V. FP) : m

dengan C= konsentrasi hasil perhitungan dari absorbansi yang didapat (mg/mL)

V= volume ekstrak sampel (mL)

m= massa senyawa uji (g)

FP= faktor pengenceran

Tabel D.19: Kadar Flavonoid Total

Jenis Gabah	TFC (mg QE/g)
Menthik wangi	1467,96 ± 0,011
Aek sibundong	1197 ± 0,011
Blambangan	1122,77

D.5 Aktivitas Anti-Oksidan dengan Metode FRAP

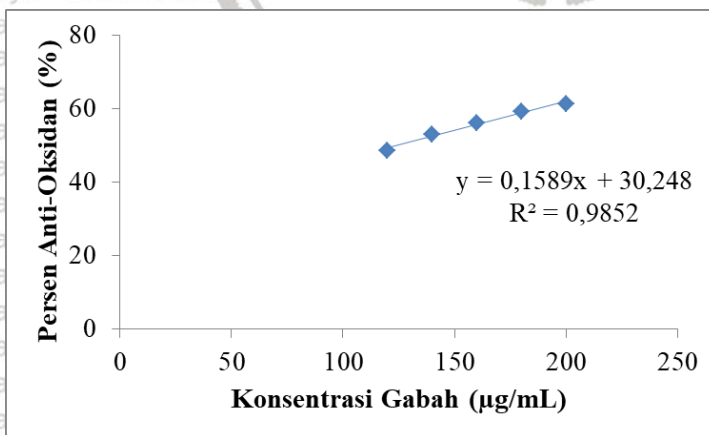
Tabel D.20: Hasil Perhitungan Aktivitas Anti-Oksidan

Jenis Gabah	Konsentrasi Ekstrak (µg/mL)	Rata-Rata Absorbansi	Aktivitas anti-oksidan (%)	IC ₅₀
Menthik wangi	0	0,243	0	y = 0,1589x+30,248 x = 124,3
	120	0,473	48,6	
	140	0,517	53	
	160	0,553	56,17	
	180	0,597	59,3	
Aek Sibundong	200	0,629	61,4	y = 0,1508x+32,382 x = 116,83
	0	0,243	0	
	120	0,488	50,2	
	140	0,523	53,5	
	160	0,564	57	
Blambangan	180	0,601	59,6	y = 0,6015x+49,347 x = 1,086
	200	0,644	62,3	
	0	0,243	0	
	2	0,491	50,5	
	4	0,503	51,7	

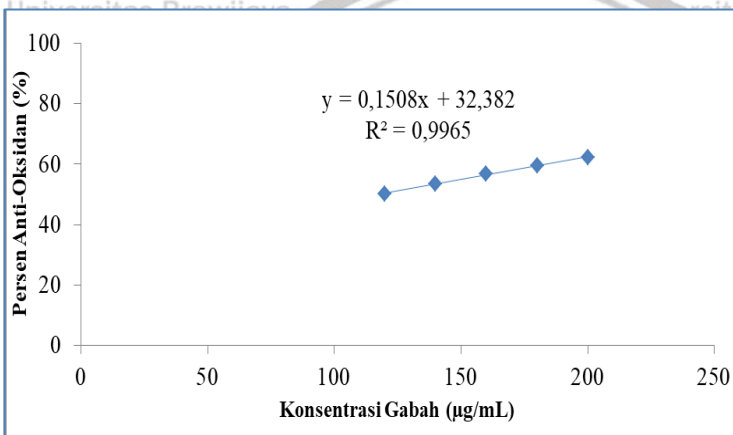
Asam Askorbat	6	0,518	53,1	$y = 1,0175x + 49,717$ $x = 0,278$
	8	0,531	54,2	
	10	0,543	55,3	
	0	0,517	0	
	2	0,642	19,5	
	4	0,715	27,7	
	6	0,873	40,8	
	8	1,115	53,6	
	10	1,265	59,1	

Tabel D.21: Hasil Perhitungan Nilai IC₅₀

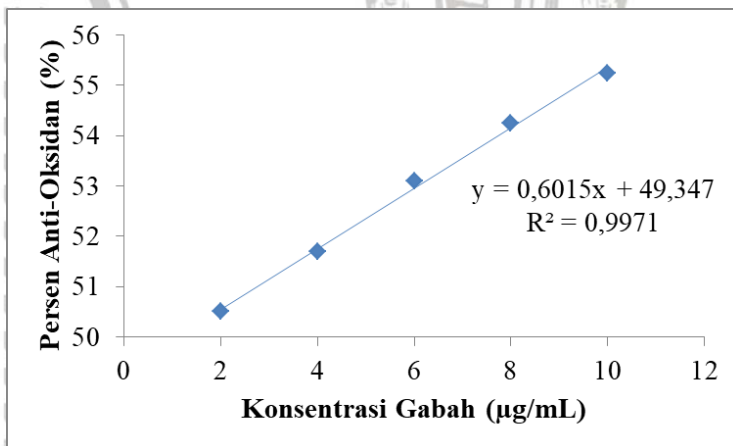
Jenis Gabah	IC ₅₀ (µg/mL)
Menthik wangi	124,3
Aek sibundong	116,83
Blambangan	1,089
Asam Askorbat	0,28



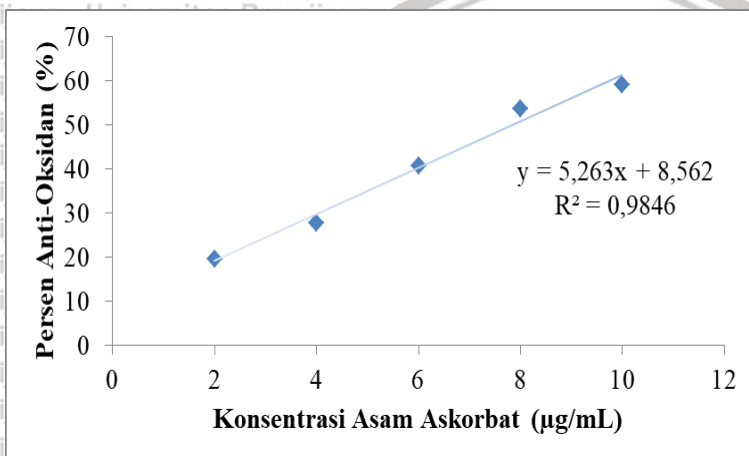
Gambar D.3: Kurva Hubungan Konsentrasi dan Persen Anti-Oksidan Ekstrak Menthik Wangi



Gambar D.4: Kurva Hubungan Konsentrasi dan Persen Anti-Oksidan Ekstrak Aek Sibundong

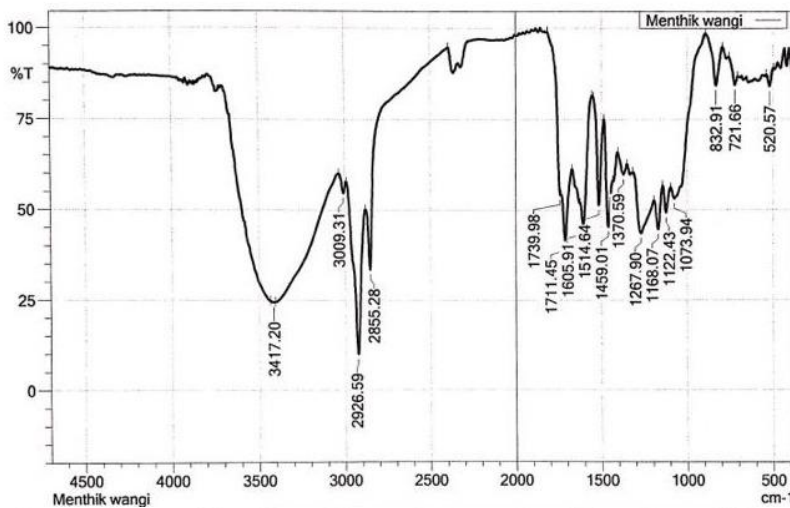


Gambar D.5: Kurva Hubungan Konsentrasi dan Persen Anti-Oksidan Ekstrak Blambangan



Gambar D.6: Kurva Hubungan Konsentrasi dan Persen Anti-Oksidan Ekstrak Asam Askorbat

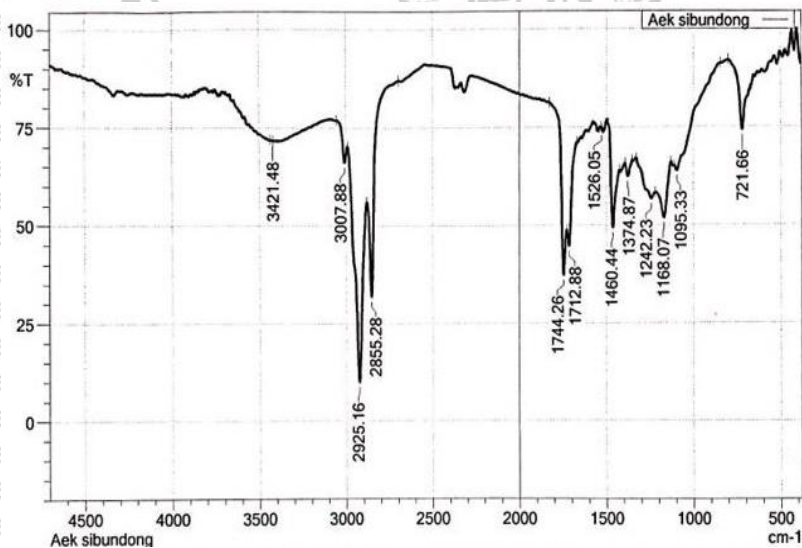
4.1 Hasil Identifikasi FTIR



Gambar D.7: Spektrum FTIR Gabah Menthik Wangi

Tabel D.22: Data FTIR Gabah Menthik Wangi

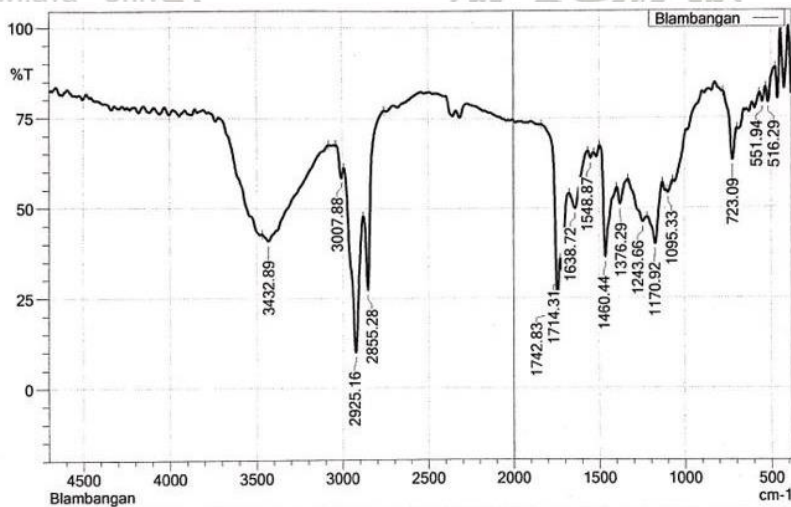
No.	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	520.57	84.01	3.99	539.11	496.32	584.687	76.091
2	721.66	84.40	3.98	757.32	705.97	632.086	88.575
3	832.91	77.19	11.96	894.23	794.40	790.501	450.967
4	1073.94	53.17	7.51	1095.33	894.23	5153.695	586.493
5	1122.43	49.28	7.22	1142.40	1095.33	2204.233	155.032
6	1168.07	44.67	9.93	1192.31	1142.40	2502.729	239.741
7	1267.90	43.56	13.90	1314.97	1192.31	6190.109	859.898
8	1370.59	59.88	4.02	1404.82	1350.62	2053.588	120.812
9	1459.01	45.34	21.51	1484.69	1431.92	2311.139	549.445
10	1514.64	51.41	26.54	1547.44	1484.69	2064.208	689.442
11	1605.91	46.17	13.44	1623.03	1556.00	2598.125	372.876
12	1711.45	41.60	15.32	1734.27	1670.09	3107.874	408.206
13	1739.98	54.21	3.32	1815.57	1734.27	1353.467	-542.173
14	2855.28	33.64	18.95	2880.95	2394.61	9120.899	-4261.874
15	2926.59	10.00	43.36	2992.19	2880.95	7113.192	2000.679
16	3009.31	54.74	4.03	3034.98	2992.19	1825.133	70.888
17	3417.20	24.44	0.24	3435.74	3407.22	2152.196	4.969



Gambar D.8: Spektrum FTIR Gabah Aek Sibundong

Tabel D.23: Data FTIR Gabah Aek Sibundong

No.	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	721.66	74.19	12.67	801.53	681.73	1810.061	390.356
2	1095.33	63.97	2.39	1108.17	844.32	5562.069	-201.922
3	1168.07	77.19	10.72	1216.56	1128.13	3765.055	426.952
4	1242.23	56.75	3.64	1327.80	1216.56	4386.952	243.039
5	1374.87	62.49	3.61	1391.98	1350.62	1475.619	76.259
6	1460.44	49.48	21.22	1468.96	1423.36	2556.520	583.392
7	1526.05	74.25	0.63	1531.75	1521.77	253.571	3.070
8	1712.88	44.73	9.18	1725.72	1668.67	2365.239	86.701
9	1744.26	37.39	17.42	1826.98	1725.72	3308.269	-227.777
10	2855.28	31.96	28.73	2882.37	2696.97	4734.681	-534.192
11	2925.16	10.00	51.70	2992.19	2882.37	6513.066	2478.521
12	3007.88	66.36	5.65	3054.95	2992.19	1726.446	74.421
13	3421.48	71.81	0.04	3435.74	3418.63	481.092	0.487



Gambar D.9: Spektrum FTIR Gabah Blambangan

Tabel D.24: Data FTIR Gabah Blambangan

No.	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	516.29	78.99	5.85	530.55	476.35	854.621	93.062
2	551.94	79.23	3.00	567.63	530.55	707.011	52.714
3	723.09	77.19	11.86	780.14	697.42	2239.824	335.044
4	1095.33	54.35	1.39	1106.74	1068.23	1709.954	27.564
5	1170.92	40.06	12.60	1219.41	1129.56	4790.100	502.644
6	1243.66	46.23	3.61	1329.23	1219.41	5407.058	219.908
7	1376.29	51.11	5.30	1396.26	1329.23	3026.635	135.810
8	1460.44	36.50	26.69	1496.10	1396.26	4844.163	1004.106
9	1548.87	63.95	1.75	1564.55	1528.90	1252.485	28.766
10	1638.72	49.98	7.99	1674.37	1564.55	4746.726	357.580
11	1714.31	32.45	7.58	1725.72	1674.37	2883.857	63.949
12	1742.83	23.41	18.25	1838.39	1725.72	4636.026	472.873
13	2855.28	27.37	26.84	2882.37	2756.87	4922.799	221.799
14	2925.16	10.00	43.07	2993.62	2882.37	7208.480	2160.544
15	3007.88	58.59	4.64	3042.11	2993.62	1788.425	68.431
16	3432.89	40.94	4.12	3468.55	3082.04	17879.064	565.721

Tabel D.25: Interpretasi Spektrum FTIR Gabah Beras Merah

Jenis Gabah	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Gugus Fungsional
Menthik Wangi	3417,2	O-H <i>stretching</i>
	3009,31	C-H alifatik
	2855,28 - 2926,59	C-H sp ³ <i>stretching</i>
	1711,45 - 1739,98	C=O <i>stretching</i> dari grup aromatik
	1514,64 - 1605,91	C=C <i>stretching</i> dari alkanan dan aromatik
	1459,01	CH ₂ dan CH ₃ (vibrasi <i>rocking</i> dari ikatan C-H)
	1370,59	CH aromatik dan karbonil-karbonat
	1267,90	CHOH <i>stretching</i> dari grup alcohol
	1073,94 - 1168,07	Grup C-O
	400-1000	"Fingerprint region"
Aek Sibundong		O-H <i>stretching</i>
	3421,48	
	3007,88	C-H alifatik
	2855,28 - 2925,16	C-H sp ³ <i>stretching</i>

	1712,88 – 1744,26	C=O <i>stretching</i> dari grup aromatik
	1526,05	C=C <i>stretching</i> dari alkanan dan aromatik
	1460,44	CH ₂ dan CH ₃ (vibrasi <i>rocking</i> dari ikatan C-H)
	1374,87	CH aromatik dan karbonil-karbonat
	1242,23	CHOH <i>stretching</i> dari grup alkohol
	1095,33 - 1168,07	Grup C-O
	400-1000	“ <i>Fingerprint region</i> ”
Blambangan	3432,89	O-H <i>stretching</i>
	3007,88	C-H alifatik
	2855,28 - 2925,16	C-H sp ³ <i>stretching</i>
	1714,31 – 1742,83	C=O <i>stretching</i> dari grup aromatik
	1548,87 – 1638,72	C=C <i>stretching</i> dari alkanan dan aromatik
	1460,44	CH ₂ dan CH ₃ (vibrasi <i>rocking</i> dari ikatan C-H)
	1376,29	CH aromatik dan karbonil-karbonat
	1243,66	CHOH <i>stretching</i> dari grup alkohol
	1095,33 - 1170,92	Grup C-O
	400-1000	“ <i>Fingerprint region</i> ”

D.6 Hasil Analisis Data

D.6.1 Analisis Statistik pada Kadar Fenolik Total

D.6.1.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		TPC
N		9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1575.8970
	Std. Deviation	541.81506
Most Extreme Differences	Absolute	.208
	Positive	.207
	Negative	-.208
Test Statistic		.208
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

D.6.1.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.000	2	6	1.000

D.6.1.3 Uji ANOVA

ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	143.415	2	71.707	.000	1.000
Within Groups	2348365.028	6	391394.171		
Total	2348508.443	8			

D.6.1.4 Uji Tukey HSD

TPC

Tukey HSD^a

Ulangan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
3	3	1571.6652
2	3	1574.7769
1	3	1581.2488
Sig.		1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

D.6.2 Analisis Statistik pada Kadar Flavonoid Total

D.6.2.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		TFC
N		9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	420.5012
	Std. Deviation	52.36495
Most Extreme Differences	Absolute	.323
	Positive	.323
	Negative	-.233
Test Statistic		.323
Asymp. Sig. (2-tailed)		.070 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

D.6.2.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

TFC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.002	2	6	.998

D.6.2.3 Uji ANOVA

ANOVA

TFC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.843	2	.422	.000	1.000
Within Groups	21935.864	6	3655.977		
Total	21936.707	8			

D.6.2.4 Uji Tukey HSD

TFC

Tukey HSD^a

Ulangan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
3	3	420.2752
2	3	420.2944
1	3	420.9340
Sig.		1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

D.6.3 Analisis Statistik pada Aktivitas Anti-Oksidan

D.6.3.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			
			Unstandardized Predicted Value
N			9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean		80.6533333
	Std. Deviation		53.25190208
Most Extreme Differences	Absolute		.209
	Positive		.209
	Negative		-.209
Test Statistic			.209
Asymp. Sig. (2-tailed) ^c			.200 ^d
Monte Carlo Sig. (2-tailed) ^e	Sig.		.305
	99% Confidence Interval	Lower Bound	.293
		Upper Bound	.317
a. Test distribution is Normal.			

- b. Calculated from data.
- c. Lilliefors Significance Correction.
- d. This is a lower bound of the true significance.
- e. Lilliefors' method based on 10000 Monte Carlo samples with starting seed 2000000.

D.6.3.2 Uji Homogenitas

Tests of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
IC ₅₀	Based on Mean	8.977	2	6	.016
	Based on Median	1.996	2	6	.217
	Based on Median and with adjusted df	1.996	2	2.046	.331
	Based on trimmed mean	8.148	2	6	.019

D.6.3.3 Uji Brown-Forsythe

Robust Tests of Equality of Means				
IC ₅₀				
	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	978352.959	2	2.043	<.001

a. Asymptotically F distributed.

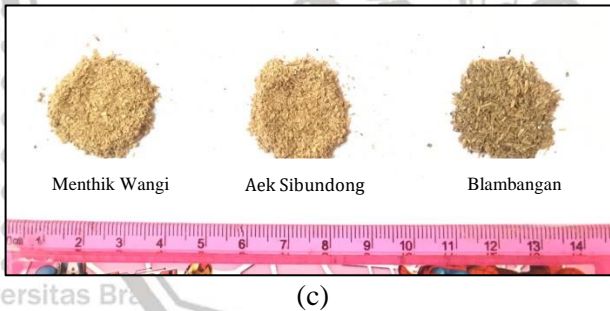
D.6.3.4 Uji Games-Howell

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: IC ₅₀						
Games-Howell						
(I) JenisGabah	(J) JenisGabah	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Menthik Wangi	Aek Sibundong	7.26000 [*]	.12078	<.001	6.5633	7.9567
	Blambangan	122.98000 [*]	.12023	<.001	122.2729	123.6871
Aek Sibundong	Menthik Wangi	-7.26000 [*]	.12078	<.001	-7.9567	-6.5633
	Blambangan	115.72000 [*]	.01247	<.001	115.6562	115.7838
Blambangan	Menthik Wangi	-122.98000 [*]	.12023	<.001	-123.6871	-122.2729
	Aek Sibundong	-115.72000 [*]	.01247	<.001	-115.7838	-115.6562

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran E. Foto Penelitian

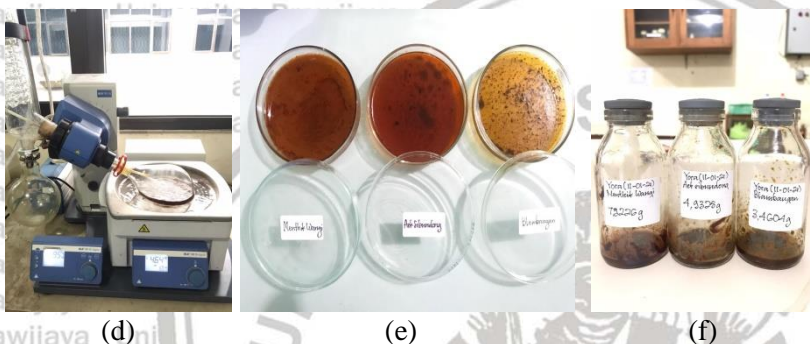
E.1 Pemisahan Gabah dari Biji Beras Merah



Gambar E.1: (a) Penghalusan gabah (b) Serbuk gabah (c) Perbedaan serbuk

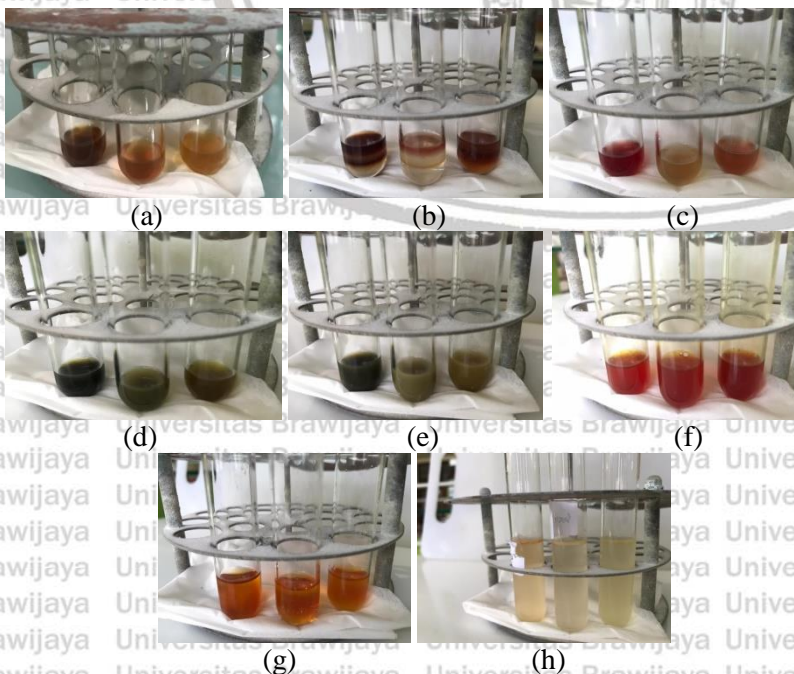
E.2 Pembuatan ekstrak gabah beras merah





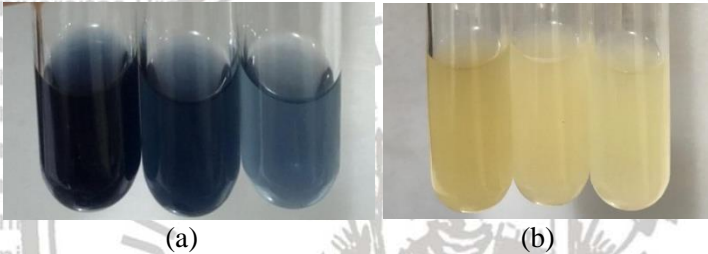
Gambar E.2: (a) Penimbangan serbuk gabah (b) Maserasi gabah dengan pelarut etanol selama 72 jam (c) Penyaringan hasil maserasi (d) Proses *rotary evaporator* (e) Perbedaan ekstrak ketiga gabah (f) Hasil ekstrak

E.3 Uji fitokimia ekstrak gabah beras merah



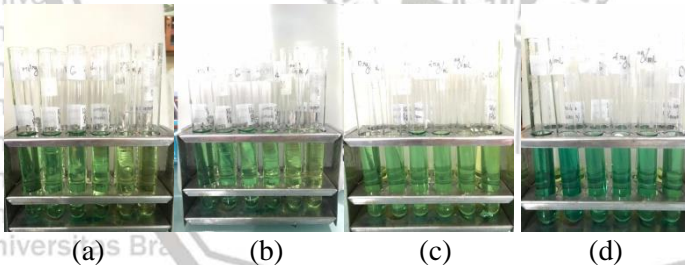
Gambar E.3: (a) Hasil uji flavonoid (b) Hasil uji triterpenoid (c) Hasil uji steroid (d) Hasil uji fenolik (e) Hasil uji tannin (f) Hasil uji alkaloid (g) Hasil uji glikosida (h) Hasil uji saponin

E.4 Penentuan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total pada Ekstrak Gabah Beras Merah



Gambar E.4: Hasil uji (a) kadar fenolik total (b) kadar flavonoid total

E.5 Uji aktivitas anti-oksidan dengan metode FRAP



Gambar E.5: Hasil uji FRAP (a) Gabah Menthik Wangi (b) Gabah Aek Sibundong (c) Gabah Blambangan (d) Asam Askorbat

E.6 Identifikasi ekstrak gabah beras merah menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)



Gambar E.6: Instrumen FTIR